

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE EDAFOLOGÍA



EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS  
BIODEGRADABLES Y EL CLIMA MEDITERRÁNEO SOBRE EL CICLO  
DEL CARBONO EN UN SUELO AGRÍCOLA CALCÁREO

TESIS DOCTORAL DE:

**SERGIO GONZÁLEZ UBIERNA**

DIRIGIDA POR:

**MARÍA TERESA DE LA CRUZ CARAVACA  
MIGUEL ÁNGEL CASERMEIRO MARTÍNEZ**

Madrid, 2013



**Efecto de la aplicación de  
residuos orgánicos  
biodegradables y del clima  
mediterráneo sobre el ciclo  
del carbono en un suelo  
agrícola calcáreo**



**Sergio González Ubierna**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**

***Departamento de Edafología***



**Efecto de la aplicación de residuos orgánicos  
biodegradables y del clima mediterráneo sobre  
el ciclo del carbono en un suelo agrícola  
calcáreo.**

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR CON  
MENCIÓN EUROPEA POR:

**Sergio González Ubierna**

**BAJO LA DIRECCIÓN DE LOS DOCTORES:**

María Teresa de la Cruz Caravaca

Miguel Ángel Casermeiro Martínez

**Madrid, 2013**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**

***Departamento de Edafología***



**PHD THESIS:** Effect of the application of biodegradable organic residues and the Mediterranean type of climate on the carbon cycle in agricultural calcareous soil.

**TESI DI DOTTORATO:** Effetto dell'applicazione di rifiuti organici biodegradabili e del clima mediterraneo sul ciclo del carbonio in un suolo agricolo calcareo.

**Sergio González Ubierna**

Under the direction of Doctors/ Sotto la direzione dei dottori

María Teresa de la Cruz Caravaca

Miguel Ángel Casermeiro Martínez

**Madrid, 2013**



# **Efecto de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables y del clima mediterráneo sobre el ciclo del carbono en un suelo agrícola calcáreo.**

## **Directores**

María Teresa de la Cruz Caravaca  
Miguel Ángel Casermeiro Martínez

VºBº Directora de Tesis

VºBº Director de Tesis

María Teresa de la Cruz  
Caravaca

Miguel Ángel Casermeiro  
Martínez

Esta tesis se ha realizado con la financiación de los proyectos:

Impacto sobre el cambio climático de la aplicación de lodos de depuradora al suelo. Efectos en el secuestro de carbono (CGL2006-13915/CLI). Financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología.

Metodologías para la monitorización de la aplicación de lodos de depuradora. Bioseguridad microbiana y modelos de flujo y transporte de contaminantes solubles (022/PC08/3-04.2). Financiado por el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino.







# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

## FACULTAD DE FARMACIA *Departamento de Edafología*



D. Antonio Leovigildo López Lafuente, Director del Departamento de Edafología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICA:

Que el trabajo que constituye la presente memoria “Efecto de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables y del clima mediterráneo sobre el ciclo del carbono en un suelo agrícola calcáreo”, que presenta D. Sergio González Ubierna para optar al grado de Doctor en Farmacia, ha sido realizada con la dirección de la Dra. María Teresa de la Cruz Caravaca y del Dr. Miguel Ángel Casermeiro Martínez.

Y para que así conste, firmo la presente certificación en Madrid, 17 de junio de 2013.

Una firma manuscrita en tinta azul, que parece ser la del Sr. Leovigildo, con una gran 'L' inicial y una 'f' prominente.

Antonio Leovigildo López Lafuente



**“También el hombre blanco desaparecerá, quizá antes que las demás razas.  
Contamina sus lechos, y una noche perecerá ahogado en sus propios desechos”**

Carta del Gran Jefe Seattle a Franklin Pierce, Presidente de los Estados Unidos de América  
(1854).



## Agradecimientos

Esta tesis ha sido parte de mi camino, me ha hecho pasar la mejor época de mi vida y ha acabado, como no podía ser de otra manera, de la mejor forma posible, generando una nueva incertidumbre, alumbrando un nuevo bache en mi senda. Quiero agradecer a todos los que han hecho de los múltiples obstáculos de esta época una experiencia digna de ser vivida, a los que han formado parte de este camino mal asfaltado y que en ocasiones ha destrozado mi amortiguación, pero que siempre, no lo dudéis, ha merecido la pena. Gracias por hacer que las luces de la carretera no me hayan deslumbrado y hayan hecho que me pierda las desviaciones que hacen que sea digna de caminar. Especialmente a mis padres y a mis abuelos, que forman parte de cada decisión y de cada experiencia que vivo, porque en cada una de ellas siento la impronta que me han dejado y la mejor de sus herencias: saber disfrutar de cada paso que doy.

Quiero agradecer también a mi familia complutense, porque lejos de llegar al departamento llegaba a casa cada mañana. A Miguel, gracias por tu confianza inicial, por tu cariño a partir del minuto uno y por tu dedicación total en sacar a este “melón” adelante... gracias porque lejos de convertir la tesis en un trabajo o un fin te has empeñado en que sea una experiencia, un aprendizaje y un camino...no puedo imaginarme a nadie mejor para disfrutar de este tramo... Y generando la balanza perfecta, gracias a Maite... por ser la mejor madre en la ciencia, madre con todas las letras y connotaciones, madre de las que solo hay una. Gracias por tu cariño, porque se siente en cada palabra, en cada gesto y en cada invitación a comer como uno más de tu familia...

Gracias a José Ramón, por su increíble paciencia, por su dedicación...porque si, aunque no te parezca, todos sabemos que lo haces por nosotros, que tu departamento somos nosotros... sin ti no habría tantas risas, tantos “pitis” y tanta ciencia en el departamento. Y gracias a Concha, por tus “holitas” y “hasta luegoitos”, gracias por hacernos sentir partícipes del futuro, por hacernos sentir que cada opinión y decisión era la más importante... y gracias por ser como eres... a pesar de los pesares.

Y para acabar con la familia quedan mis hermanos: Anis, Crispin y Nach... qué decirlos... han sido tantos los momentos y las emociones que sería absurdo resumirlas aquí. Gracias simplemente por existir y por cruzaros en mi camino. Sois quizá los más

importantes y, por ello, a los que menos sé qué decir... Gracias también a los micros, Nacho y Leti, o Serpa y Bolardo, a Elena, Selia e Ivanka... He aprendido más con vosotros que leyendo todo el *sciencedirect*, gracias por enseñarme y abrir mi foco, espero no difuminaros nunca en mi vida.

Por último, esta Tesis ha sido en gran parte redactada en Bologna, sin duda mi segundo hogar para el resto de la vida. Durante cuatro meses conocí a gente esencial, que hizo de esos días un gran tropezón en mi caminar, que lejos de hacerme perder el paso me lanzó hacia adelante. Gracias a Manu, mi “fratello”, y a Gabriele por acogerme sin tapujos y hacer de su día a día mi día a día, por Napoli, indimenticabile... Gracias a Alejandro y a Alessandra, por hacerme uno más de esa pequeña familia de laboratorio y por todo el cariño y las sonrisas con las que me habéis tratado sin conocerme. Y gracias a Antonio, porque solo con una cena de esas hubiera hecho merecer la pena los cuatro meses, porque con cuatro momentos cambiaste mi manera de pisar... Italia, simplemente una época que se queda tatuada en mí.

# Índice

<b>Resumen</b> .....	- 3 -
<b>1. Introducción</b> .....	- 17 -
1.1 Suelos y cambio climático .....	- 17 -
1.2 El problema de los residuos orgánicos biodegradables.....	- 21 -
1.3 Limitaciones ambientales al uso de residuos como enmienda agrícola.....	- 23 -
1.3.1 Contenido en metales pesados .....	- 23 -
1.3.2 Contenido en contaminantes orgánicos .....	- 24 -
1.3.3 Microorganismos exógenos .....	- 25 -
1.3.4 Impacto sobre los ciclos biogeoquímicos.....	- 25 -
1.4 Implicaciones en el ciclo del carbono.....	- 27 -
1.4.1 Nuevas perspectivas de conocimiento .....	- 34 -
<b>2.Objetivos</b> .....	- 37 -
<b>3.Material y métodos</b> .....	- 41 -
3.1 Área experimental.....	- 41 -
3.1.1 Geología .....	- 43 -
3.1.2 Edafología.....	- 44 -
3.1.3 Climatología.....	- 46 -
3.2 Residuos orgánicos.....	- 50 -
3.2.1 Proyecto CICYT (CGL2006-13915/CLI).....	- 50 -
3.2.2 Proyecto MARM (MMA0022/PC08/3-04.2).....	- 51 -
3.3 Diseño experimental .....	- 53 -
3.3.1 Proyecto CICYT (CGL2006-13915/CLI).....	- 53 -
3.3.2 Proyecto MARM (MMA0022/PC08/3-04.2).....	- 56 -
3.4 Análisis de muestras.....	- 58 -
3.5 Análisis de datos.....	- 60 -
<b>4. Resultados</b> .....	- 65 -
4.1 Aplicación de lodos de depuradora a suelos agrícolas calcáreos mediterráneos: efectos de la dosis de aplicación sobre el ciclo del carbono en el suelo .....	- 69 -
4.1.1 Resumen.....	- 69 -
4.1.2 Introduction.....	- 71 -
4.1.3 Material and methods.....	- 72 -



4.1.3.1 Study area.....	- 72 -
4.1.3.2 Organic amendments .....	- 74 -
4.1.3.3 Experimental plot design and sampling .....	- 75 -
4.1.3.4 Chemical and physico-chemical analysis.....	- 75 -
4.1.3.5 Statistical analysis.....	- 76 -
4.1.4 Results and discussion.....	- 77 -
4.1.4.1 Chemical properties .....	- 77 -
4.1.4.2 Inorganic carbon forms .....	- 77 -
4.1.4.3 Soil organic carbon .....	- 80 -
4.1.4.4 Soil respiration.....	- 84 -
4.1.4.5 Soil carbon evolution.....	- 88 -
4.1.5 Conclusions.....	- 89 -
4.2 Evolución de la materia orgánica del suelo tras la aplicación de altas dosis de enmiendas orgánicas en un suelo calcáreo mediterráneo .....	- 93 -
4.2.1 Resumen .....	- 93 -
4.2.2 Introduction.....	- 95 -
4.2.3 Material and methods .....	- 97 -
4.2.3.1 Study area.....	- 97 -
4.2.3.2 Organic amendments .....	- 98 -
4.2.3.3 Experimental plot design and sampling .....	- 99 -
4.2.3.4 Chemical and physico-chemical analysis.....	- 100 -
4.2.3.5 Statistical analysis.....	- 101 -
4.2.4 Results and discussion.....	- 102 -
4.2.4.1 Chemical properties .....	- 102 -
4.2.4.2 Inorganic carbon.....	- 103 -
4.2.4.3 SOM evolution .....	- 106 -
4.2.4.4 CO <sub>2</sub> emissions and soil properties .....	- 113 -
4.2.5 Conclusions.....	- 116 -
4.3 Evaluando la influencia del clima mediterráneo en la respiración del suelo agrícola a través de escalas temporales .....	- 119 -
4.3.1 Resumen .....	- 119 -
4.3.2 Introduction.....	- 121 -
4.3.3 Material and methods .....	- 122 -
4.3.3.1 Study area.....	- 122 -

4.3.3.2 Experimental plot and sampling .....	- 123 -
4.3.3.3 Data analysis.....	- 124 -
4.3.4 Results .....	- 126 -
4.3.4.1 Annual relationship between soil respiration, temperature and soil water content. ....	- 126 -
4.3.4.2 Seasonal relationship between soil respiration, temperature and soil water content.....	- 131 -
4.3.4.3 Daily relationship between soil respiration, temperature and soil water content .....	- 135 -
4.3.5 Discussion .....	- 136 -
4.3.5.1 Annual relationship between soil respiration, temperature and soil water content .....	- 136 -
4.3.5.2 Seasonal relationship between soil respiration temperature and soil water content.....	- 139 -
4.3.5.3 Daily relationship between soil respiration temperature and soil water content .....	- 140 -
4.3.6 Conclusions.....	- 140 -
4.4 ¿Cómo influyen los residuos orgánicos biodegradables en las emisiones de CO <sub>2</sub> del suelo? Estudio en un agroecosistema mediterráneo.....	- 145 -
4.4.1 Resumen.....	- 145 -
4.4.2 Introduction.....	- 147 -
4.4.3 Material and methods.....	- 149 -
4.4.3.1 Study area.....	- 149 -
4.4.3.2 Biodegradable organic amendments .....	- 149 -
4.4.3.3 Experimental design.....	- 151 -
4.4.3.4 Sampling .....	- 151 -
4.4.3.5 Statistical analysis and empirical models.....	- 152 -
4.4.4 Results .....	- 153 -
4.4.4.1 Soil respiration evolution over a very short period .....	- 153 -
4.4.4.2 Seasonal evolution of soil respiration.....	- 154 -
4.4.4.3 Recalcitrance index (RI).....	- 158 -
4.4.4.4 Influence of soil temperature, soil water content and rewetting on annual respiration. ....	- 159 -
4.4.5 Discussion .....	- 162 -
4.4.5.1 Influence of the type of treatment on soil respiration .....	- 162 -
4.4.5.2 Soil respiration evolution over a very short period .....	- 162 -

4.4.5.3 Seasonal soil respiration evolution .....	- 163 -
4.4.5.4 Influence of soil temperature, soil water content and rewetting in annual respiration.....	- 165 -
4.4.5.5 Implications for management .....	- 166 -
4.4.6 Conclusions.....	- 167 -
5. Discusión.....	- 171 -
5.1 Evolución de la materia orgánica del suelo tras la aplicación de residuos orgánicos biodegradables.....	- 171 -
5.1.1 Efectos del tipo y la dosis de los residuos aplicados .....	- 174 -
5.1.2 Influencia de la aplicación de los residuos en las formas inorgánicas de carbono .....	- 176 -
5.2 Efecto de las enmiendas sobre la respiración del suelo .....	- 179 -
5.2.1 ¿Cómo influyen las variables climáticas en el proceso de respiración en el caso particular de un suelo mediterráneo? Variaciones tras la aplicación de los residuos .....	- 180 -
5.2.2 ¿Cómo se modifican los patrones de respiración tras la aplicación de residuos orgánicos biodegradables?.....	- 183 -
5.2.2.1 Respiración basal del suelo .....	- 183 -
5.2.2.2 Efectos de la aplicación de los residuos sobre las emisiones de CO <sub>2</sub> .....	- 184 -
6. Conclusiones .....	- 189 -
7. Bibliografía.....	- 199 -

## Índice de figuras

<b>Figura 1.1</b> Esquema del ciclo de carbono terrestre. Fuente: U.S. Department of Energy (DOE). Office of Science Office of Biological and Environmental Research. (2008). .....	- 18 -
<b>Figura 1.2</b> Esquema del funcionamiento del ciclo del carbono en el suelo (Zech et al., 1997).....	- 28 -
<b>Figura 3.1</b> Situación y parcelas experimentales.....	- 42 -
<b>Figura 3.2</b> Situación del área experimental. ....	- 44 -
<b>Figura 3.3</b> Diagrama climático de la estación meteorológica de Arganda del Rey (Fuente.- AEMET) .....	- 48 -
<b>Figura 3.4</b> Comparación de las temperaturas medias de la estación de Arganda del Rey con las medias de los años de medida (Fuente.- AEMET).....	- 49 -
<b>Figura 3.5</b> Comparación de las precipitaciones medias de la estación de Arganda del Rey con las medias de los años de medida (Fuente.- AEMET).....	- 49 -
<b>Figura 3.6</b> Distribución de los bloques y las parcelas del primer proyecto (CICYT).....	- 53 -
<b>Figura 3.7</b> Montaje de las parcelas. ....	- 54 -
<b>Figura 3.8</b> Fechas de los muestreos y situación climatológica durante el proyecto CICYT. (Datos climatológicos de la finca La Isla en los años 2007 a 2009).....	- 55 -
<b>Figura 3.9</b> Distribución de los bloques y las parcelas del segundo proyecto (MARM)....	- 56 -
<b>Figura 3.10</b> Fechas de los muestreos y situación climatológica durante el proyecto MARMT. (Datos climatológicos de la finca La Isla en los años 2010 a 2011). ....	- 57 -
<b>Figura 3.11</b> Montaje de cilindros y detector Li-COR 8100.....	- 59 -
<b>Figure 4.1.1</b> Chemical properties and sluble hydrogen carbonates .....	- 78 -
<b>Figure 4.1.2</b> Total and Soluble Organic Carbon .....	- 81 -
<b>Figure 4.1.3</b> Organic Carbon Fractions.....	- 83 -
<b>Figure 4.1.4</b> Soil Respiration .....	- 86 -
<b>Figure 4.2.1</b> Soil chemical properties and soil organic carbon forms.....	- 105 -
<b>Figure 4.2.2</b> Soil organic carbon and CO <sub>2</sub> emissions.....	- 110 -
<b>Figure 4.2.3</b> Soil organic carbon fractions .....	- 112 -
<b>Figure 4.3.1.-</b> Models tested for environmental factors dependent on soil respiration .....	- 129 -
<b>Figure 4.3.2</b> Annual evolution of soil respiration, temperature and moisture .....	- 134 -
<b>Figure 4.4.1</b> Annual soil respiration evolution.....	- 155 -
<b>Figure 4.4.2</b> Recalcitrance index. (Capital letters indicate differences between dates and lowercase between treatments.) .....	- 159 -

**Figure 4.4.3** Application of Gaussian empirical model to respiration and soil climatic factor relationships. ....- 161 -

**Figura 5.1** Esquema del ciclo del carbono tras la aplicación de residuos orgánicos biodegradables. Fuente: Elaboración propia a partir de Zerch et al., 1997.....- 174 -

**Figura 5.2** Esquema del impacto de la aplicación de residuos orgánicos sobre el ciclo del carbono inorgánico en el suelo. ....- 178 -

## Índice de tablas

<b>Tabla 3.1</b> Características específicas del horizonte Ap, separadas por las dos profundidades a las que se han tomado las muestras.....	- 45 -
<b>Tabla 3.2</b> Comparación de las temperaturas medias de la estación de Arganda del Rey con las medias de los años de medida (Fuente.- AEMET).....	- 49 -
<b>Tabla 3.3</b> Comparación de las precipitaciones medias de la estación de Arganda del Rey con las medias de los años de medida (Fuente.- AEMET).....	- 49 -
<b>Tabla 3.4</b> Características de las enmiendas orgánicas aplicadas .....	- 52 -
<b>Table 4.1.1</b> Specific characteristics of the Ap horizon .....	- 73 -
<b>Table 4.1.2</b> Specific characteristics of the organic amendments .....	- 74 -
<b>Table 4.1.3</b> Values and ANOVA Results for Recalcitrance Index .....	- 84 -
<b>Table 4.1.4</b> ANOVA results of soil CO <sub>2</sub> emissions. ....	- 88 -
<b>Table 4.2.1</b> Specific characteristics of the Ap horizon, separated by two depths.....	- 98 -
<b>Table 4.2.2</b> Specific characteristics of the organic amendments. ....	- 99 -
<b>Table 4.2.3</b> Principal Component Analysis results.....	- 114 -
<b>Table 4.3.1</b> Correlation analysis results .....	- 127 -
<b>Table 4.3.2</b> Q <sub>10</sub> values and parameters and coefficients of determination of models tested to represent soil temperature and soil surface temperature dependence of soil respiration.....	- 127 -
<b>Table 4.3.3</b> Parameters and coefficients of determination of models tested to represent soil moisture and rewetting index (RWi) dependence of soil respiration. For RWi only appear the results obtained in RWi experiment. ....	- 128 -
<b>Table 4.3.4</b> Parameters and and coefficients of determination of soil temperature, soil moisture and rewetting index (RWi) dependence models. ....	- 130 -
<b>Table 4.3.5</b> ANOVA results.....	- 132 -
<b>Table 4.3.6</b> Multiple regression analysis and Q <sub>10</sub> values for annual periods and daytimes. ....	- 135 -
<b>Table 4.4.1</b> Specific characteristics of the organic amendments. ....	- 150 -
<b>Table 4.4.2</b> Multiple regression analysis results.....	- 156 -
<b>Table 4.4.3</b> Two way ANOVA with repeated measures results. ....	- 157 -
<b>Table 4.4.4</b> Gaussian model parameters and correlation coefficients.....	- 160 -
<b>Table 4.4.5</b> Modified Martin and Bolstad model parameters. ....	- 162 -







# RESUMEN



## Abstract

Climate change and the future scenarios derivate from the fact they have focused the attention on the need to adopt policies and measures that mitigate the greenhouse gas emissions into the atmosphere. The Mediterranean will be one of the most affected areas by these changes, and their soils, where respiration is the main carbon loss process, all these changes will generate a significant increase in CO<sub>2</sub> emissions. Thus, any activity or management over these soils must take into account the impact on their carbon emissions. In this sense, although the application of biodegradable organic residues in agricultural systems is a common practice, has not taken into account the impact of this management on soil CO<sub>2</sub> emissions.

Therefore, the aim of this thesis was to evaluate the effect of the application of biodegradable organic residues in agricultural calcareous soils on the soil carbon cycle under Mediterranean environments.

For this objective, it has been estimated the impact on organic and inorganic soil carbon forms; it also evaluated the relationship between soil respiration and climatic factors in Mediterranean conditions, by applying empirical models to data collected with a gauge field Li-COR 8100; and how the application of the residues modified these relationships.

Our results have shown an increase of organic carbon in all its forms. There has been seen an increase in the proportion of labile forms in autumn and winter, when microbial activity is reduced by low temperatures, due to increased consumption of labile forms in relation to recalcitrant ones at high temperatures. Soil moisture was a key factor in this process. With soluble carbon forms, reducing labile carbon values was explained by the consumption and subsequent mineralization by soil microbiota. This rapid mineralization resulted in a process of "priming effect", or explosion of soil respiration. The recalcitrant fraction suffered a slower evolution, not being as conditioned by climatic factors. This carbon fraction has been postulated as a reservoir of carbon in the soil, in any climate change strategies. However, our results showed that only the amendment with municipal solid waste compost could work in this regard.

Both the initial increase and the evolution of these forms were determined by the type of residue applied and the dose to which they were applied. The aerobic sludge

treated soils showed more rapid evolution, due to less complex carbon forms. Meanwhile the anaerobic sludge treated soils contributed more or less the same amount of organic carbon to the soil than from aerobic digestion, but the bulk polymerization of their carbon forms made a slower mineralization process. Finally, the municipal solid waste compost, much more complex, not suffered a significant evolution, not been detected significant changes in the total organic carbon content in soils amended. Furthermore, it has been found a clear dose effect in the increase of soil carbon content, as well as their evolution. Labile forms are consumed more rapidly when the residue was applicated at low doses.

The generation of organic acids during the degradation process of the organic matter has caused a decrease in the soil pH. This decrease in pH balance conditioned inorganic forms of soil, resulting in an increased content of bicarbonate, related to displacement of the carbonate-bicarbonate balance towards the latter. It has documented a reduction of bicarbonate on the soil in dry summer conditions with high concentrations of CO<sub>2</sub>, which causes an increase in carbonate values due to a secondary carbonation process.

The process of soil respiration under Mediterranean climate showed few differences with respect to that found for other areas. Under these special conditions, the application of linear models to represent the relationship between respiration and climatic factors does not conform to the results obtained, since the relationship between respiration and temperature varies with moisture regimes. These relationships are better adjusted to a gauss type model. Furthermore, the dependence on soil temperature and moisture is lower than in temperate climates, due to the clear influence of precipitation pulses on soil respiration process. Our results have allowed us to develop a modification of the model proposed by Martin and Bolstad (2009), which represent the relationships between soil respiration and climate factors. The application of the model showed that soil respiration was controlled by the interaction between soil moisture and soil temperature, rather than separate effect of these factors. The application of the amendments modified these relationships, being replaced moisture-temperature interaction for the effect of temperature as the main factor over soil respiration process.

In general, the application of the amendments produced an increase in the rate of soil CO<sub>2</sub> emission. In the short term after the adding, the amendments with more

presence of simple carbon forms (sewage sludge) showed significantly higher respiration rates than soils treated with control or any more complex amendments (compost). The evolution of respiration rates throughout the year was also different depending on the type of residue added. Thus, soils amended with aerobic digested sludge showed the highest rates of respiration after addition, but at the end of the year, its CO<sub>2</sub> emissions were lower from soils treated. Meanwhile, emissions from soils treated with composted MSW underwent the opposite evolution, the high complexity of their carbon forms made that, after addition, we could see the lowest values from the amended soils, while at the end of the year this soils were the soils with an higher rates of respiration. The anaerobic sludge amended soils showed an intermediate behaviour throughout the year, with an evolution closer to the aerobic sludge treated ones.

Therefore, the addition of biodegradable organic residues influences the amounts of the different soil carbon forms and its evolution, depending on its composition and the rate of application. The residues with simplest carbon forms undergo rapid evolution, affecting more soil CO<sub>2</sub> emissions and contributing less to the accumulation of carbon in the soil profile, while amendments with more complex forms produced lower emissions, resulting in an effective accumulation of soil carbon.



## Resumen

El cambio climático y los escenarios futuros que plantea han puesto de actualidad la necesidad de adoptar políticas y medidas para paliar la emisión de gases de efecto invernadero a la atmósfera. El área mediterránea será una de las zonas más afectadas por estos cambios, y en sus suelos, donde la respiración es el principal proceso de pérdida de carbono, todos estos cambios generarán un aumento considerable de las emisiones de CO<sub>2</sub>. Por tanto, cualquier actividad o manejo de estos suelos debe tener en cuenta el impacto sobre las emisiones de carbono. En este sentido, aunque la aplicación de residuos sólidos biodegradables a sistemas agrícolas es una práctica común, no se ha tomado en consideración el impacto de este manejo sobre las emisiones de CO<sub>2</sub> edáfico.

El objetivo de la presente tesis ha sido, por tanto, evaluar el efecto de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables sobre el ciclo del carbono en suelos agrícolas calcáreos en ambientes mediterráneos.

Para ello, se ha estimado el impacto sobre las formas orgánicas e inorgánicas del carbono en el suelo; se ha evaluado además la relación entre la respiración del suelo y los factores climáticos en condiciones mediterráneas mediante de la aplicación de modelos empíricos a los datos de campo recogidos con un medidor Li-COR 8100; y cómo la aplicación de los residuos modifica esas relaciones.

Los resultados de los análisis han mostrado un aumento del carbono orgánico en todas sus formas. Se ha observado un aumento de la proporción de formas lábiles en otoño e invierno, cuando la actividad microbiana se ve reducida por las bajas temperaturas, debido al mayor consumo de formas lábiles en relación con las formas recalcitrantes a altas temperaturas. La humedad del suelo tuvo un papel fundamental en todo este proceso. Junto con las formas solubles, la reducción de los valores de carbono lábil se explica por el consumo y posterior mineralización por parte de la microbiota del suelo. Esta rápida mineralización dio lugar a un proceso de “priming effect”, o explosión de la respiración del suelo. La fracción recalcitrante sufrió una evolución mas lenta, no estando tan condicionada por los factores climáticos. Esta fracción del carbono se ha postulado como reservorio de carbono en el suelo, en posibles estrategias contra el

cambio climático. Sin embargo, nuestros resultados han mostrado que solo la enmienda con compost de residuos sólidos urbanos podría funcionar en este sentido.

Tanto el aumento inicial como la evolución de estas formas estuvieron determinados por el tipo de residuo aplicado y la dosis a la que se aplicaron. Los suelos tratados con lodo aerobio mostraron la evolución más rápida, debido a la menor complejidad de sus formas de carbono. Por su parte los suelos tratados con lodo anaerobio aportaron más o menos la misma cantidad de carbono orgánico al suelo que los procedentes de digestión aerobia, pero la mayor polimerización de sus formas de carbono hizo que su mineralización fuera mucho más lenta. Por último, el compost de residuos sólidos urbanos, mucho más complejo, no sufrió una evolución significativa, no detectándose variaciones significativas en el contenido en carbono orgánico total en los suelos enmendados. Además, se ha encontrado un claro efecto de la dosis en el aumento del contenido en carbono, así como en su evolución. Las formas lábiles se consumen más rápidamente a bajas dosis.

La generación de ácidos orgánicos durante el proceso de degradación de la materia orgánica provocó un descenso del pH del suelo. Esta disminución de pH condicionó el equilibrio entre las formas inorgánicas del carbono del suelo, produciendo un aumento del contenido en bicarbonatos, relacionado con el desplazamiento del equilibrio carbonato-bicarbonato hacia este último. Se ha documentado una reducción de bicarbonato en el suelo en condiciones de sequía estival con alta concentración de  $\text{CO}_2$ , lo que produce un aumento de carbonato originado por un proceso de recarbonatación secundaria.

El proceso de respiración del suelo bajo clima mediterráneo ha mostrado diferencias respecto a lo encontrado para otras zonas. En estas condiciones la aplicación de modelos lineales para representar las relaciones entre respiración y factores climáticos no se ajusta a los resultados obtenidos, ya que la relación entre respiración y temperatura varía según regímenes de humedad. Estas relaciones se ajustaron mejor a modelos tipo gauss. Además, la dependencia frente a humedad y temperatura es menor que en climas templados, debido a la clara influencia de los pulsos de precipitación sobre la respiración. Nuestros resultados nos han permitido desarrollar una modificación del modelo propuesto por Martin and Bolstad (2009) para representar las relaciones entre respiración y clima. La aplicación del modelo mostró que la respiración del suelo estuvo



controlada por la interacción entre humedad y temperatura, más que por el efecto por separado de estos factores. La aplicación de las enmiendas modificó estas relaciones, siendo sustituida la interacción humedad-temperatura por el efecto de la temperatura como factor principal.

En general, la aplicación de las enmiendas produjo un aumento de la tasa de emisión de  $\text{CO}_2$  del suelo. En el corto plazo tras la adición las enmiendas con mayor presencia de formas simples de carbono (lodos de depuradora) mostraron tasas de respiración significativamente mayores que los suelos control o los tratados con enmiendas más complejas (compost). La evolución de las tasas de respiración a lo largo del año también fue diferente en función del tipo de residuo añadido. Así, los suelos enmendados con lodos de digestión aerobia mostraron las mayores tasas de respiración tras la adición, pero al final del año sus emisiones de  $\text{CO}_2$  fueron las menores de los suelos tratados. Por su parte, las emisiones de los suelos tratados con compost de RSU sufrieron una evolución contraria, la mayor complejidad de sus formas de carbono hizo que, tras la adición, mostraran los menores valores de entre los suelos enmendados, mientras que al final del año fueron los suelos que mayores tasas de respiración mostraron. Los suelos enmendados con lodo anaerobio mostraron un comportamiento intermedio a lo largo del año, con una evolución más próxima a los tratados con lodo aerobio.

Por tanto, la adición de residuos orgánicos biodegradables influye en las formas de carbono en el suelo y en su evolución, en función de su composición y la dosis de aplicación. Los residuos con formas de carbono más simples sufren una evolución rápida, afectando más a las emisiones de  $\text{CO}_2$  del suelo y contribuyendo en menor medida a la acumulación de carbono en el perfil del suelo; mientras que enmiendas con formas más complejas producen menores emisiones y una acumulación efectiva de carbono en el suelo.



## Riassunto

I cambiamenti climatici e gli scenari futuri ad essi connessi, focalizzalizzano l'attenzione sulla necessità di adottare azioni politiche e misure atte a ridurre le emissioni di gas serra nell'atmosfera. L'area Mediterranea è una delle aree più colpite da questi cambiamenti, e nei suoli, dove la respirazione è il principale processo di perdita di carbonio, tutti questi cambiamenti generano un significativo aumento delle emissioni di CO<sub>2</sub>. Pertanto, qualsiasi attività o gestione dei suoli debba tenere conto dell'impatto sulle emissioni di carbonio. In questo senso, anche se l'inserimento dei rifiuti organici biodegradabili nei suoli agricoli è una pratica comune, non si è preso in considerazione l'impatto che questa pratica ha in materia delle emissioni di CO<sub>2</sub> edafici.

L'obiettivo di questa tesi è stato quindi quello di valutare l'effetto dell'inserimento di rifiuti organici biodegradabili nel ciclo del carbonio nei suoli agricoli calcarei in diversi ambienti mediterranei.

A questo scopo è stato stimato l'impatto sulle forme organiche e inorganiche di carbonio nel suolo; è stata valutata anche la relazione tra la respirazione del suolo e i fattori climatici vigenti nel clima mediterraneo, applicando modelli empirici ai dati raccolti in campo attraverso di gauge Li-COR 8100, e come l'applicazione di residui modificati tali relazioni.

I risultati delle analisi hanno mostrato un incremento del carbonio organico in tutte le sue forme. È stato riscontrato un aumento della proporzione delle forme labili in autunno ed inverno, quando l'attività microbica è più ridotta a causa delle basse temperature, e conseguentemente è stato riscontrato un aumentato consumo delle forme labili rispetto alle forme recalcitranti ad alte temperature durante i periodi più caldi dell'anno. L'umidità del terreno è stata determinante in questo processo. La sommatoria delle forme solubili e la riduzione dei valori labili spiega come il consumo e la successiva mineralizzazione della fauna microbica del suolo siano strettamente correlate. Questa rapida mineralizzazione ha determinato un processo di "priming effect", o esplosione dalla respirazione del suolo. La frazione recalcitrante ha subito una evoluzione più lenta, non essendo condizionata direttamente dai fattori climatici. Questa frazione di carbonio è stata postulata come un serbatoio di carbonio nel suolo, nelle strategie di gestione dei

cambiamenti climatici. Tuttavia, i nostri risultati hanno dimostrato come solamente il compost derivato da rifiuti solidi urbani potrebbe contribuire in questo senso.

Sia l'aumento iniziale che l'evoluzione delle differenti forme di carbonio sono state determinate nei diversi tipi di rifiuti applicato e nei diversi dosaggi applicati. I terreni trattati con fanghi aerobici hanno mostrato una più rapida evoluzione dovuta alla minore complessità delle forme carboniche; I suoli trattati con fanghi anaerobici hanno contribuito più o meno nella stessa proporzione a legare il carbonio organico al suolo che quelli derivati dalla digestione aerobica, ma la maggiore polimerizzazione delle sue forme di carbonio ha indotto una mineralizzazione più lenta. In conclusione, il compost dei rifiuti solidi urbani, molto più complesso, non ha subito cambiamenti significativi, e non si è rilevato alcun cambiamento significativo nel contenuto di carbonio organico totale nel suolo. Inoltre, si è riscontrato un chiaro effetto dose nell'aumento del contenuto di carbonio, così come la sua evoluzione. Le forme labili si sono consumate più rapidamente a dosi basse.

La generazione di acidi organici durante il processo di degradazione della materia organica ha portato ad una diminuzione del pH del suolo. Questa modifica influisce nell'equilibrio tra le forme inorganiche di carbonio nel suolo. I nostri risultati hanno mostrato come un aumento del contenuto di bicarbonati, relativi allo spostamento dell'equilibrio carbonato-bicarbonato verso quest'ultimo. Inoltre, è stata documentata una riduzione dei bicarbonati nel suolo in condizioni di siccità estive, con un aumentato (ad alto) contenuto di CO<sub>2</sub>, causato da un processo di ricarbonizzazione.

Il processo di respirazione nel suolo nel clima mediterraneo ha mostrato differenze rispetto a quelli riscontrati in altre aree climatiche. In questi climi, l'applicazione di modelli lineari per la rappresentazione della relazione tra respirazione e i fattori climatici non si adatta ai nostri dati, poiché il rapporto tra respirazione e la temperatura varia tra i vari regimi di umidità. I nostri dati mostrano come queste relazioni si adattino meglio a modelli di tipo gaussiano. Inoltre, l'interdipendenza tra la temperatura e l'umidità è decisamente inferiore nei climi temperati, a causa della chiara influenza causata dalle maggiori precipitazioni sulla respirazione in questo clima. I nostri dati hanno permesso di sviluppare un modello modificato sulla base del modello proposto da Martin e Bolstad (2009) per rappresentare le relazioni tra respirazione e clima. Applicando il modello, è stato dimostrato che la respirazione del suolo è controllata dalla interazione tra umidità e

temperatura, piuttosto che dal effetto separato di questi due fattori. L'applicazione dei rifiuti ha modificato queste relazioni, essendo stata modificata l'interazione umidità-temperatura per l'effetto della temperatura come il fattore climatico primario legato alla respirazione.

In generale, l'applicazione dei rifiuti ha originato un aumento nel tasso di emissione di CO<sub>2</sub> del suolo. Nel breve termine dopo gli ammendamenti, i rifiuti che contribuiscono all'aumento delle forme semplici di carbonio (fanghi di depurazione) hanno mostrato tassi di respirazione significativamente più elevati rispetto ai suoli non trattati o trattati con rifiuti più complessi (compost). L'evoluzione dei tassi di respirazione nel ciclo annuale è (traverso un anno fuò) diversa a seconda del tipo di rifiuti aggiunti. Così, i suoli modificati con fanghi aerobici hanno mostrato i tassi più alti di respirazione dopo l'aggiunta, ma alla fine le sue emissioni di CO<sub>2</sub> sono state inferiori che negli altri suoli trattati. Nel contempo, le emissioni dei suoli trattati con compost hanno subito la evoluzione contraria, l'accresciuta complessità delle loro forme di carbonio hanno fatto sì che, dopo la aggiunta, questi suoli hanno mostrato i valori più bassi ottenuti per i suoli modificati, mentre alla fine della nostra ricerca sono stati quelli con i tassi più alti di respirazione. I suoli modificati con fanghi anaerobici hanno mostrato un comportamento intermedio durante tutto l'anno, con una evoluzione più vicina ai suoli trattati con fanghi aerobici.

Pertanto, l'aggiunta di rifiuti organici biodegradabili influiscono nel ciclo del carbonio nel suolo e alla sua evoluzione, a seconda dalla loro composizione e modalità di applicazione. I rifiuti con le forme più semplici di carbonio subiscono una più rapida evoluzione, che influisce sulle emissioni di CO<sub>2</sub> del suolo contribuendo meno all'accumulo di carbonio nel profilo del suolo; mentre gli ammendamenti con forme più complesse producono meno emissioni e contribuiscono ad un più efficace accumulo di carbonio nel suolo.



# INTRODUCCIÓN





# 1 Introducción

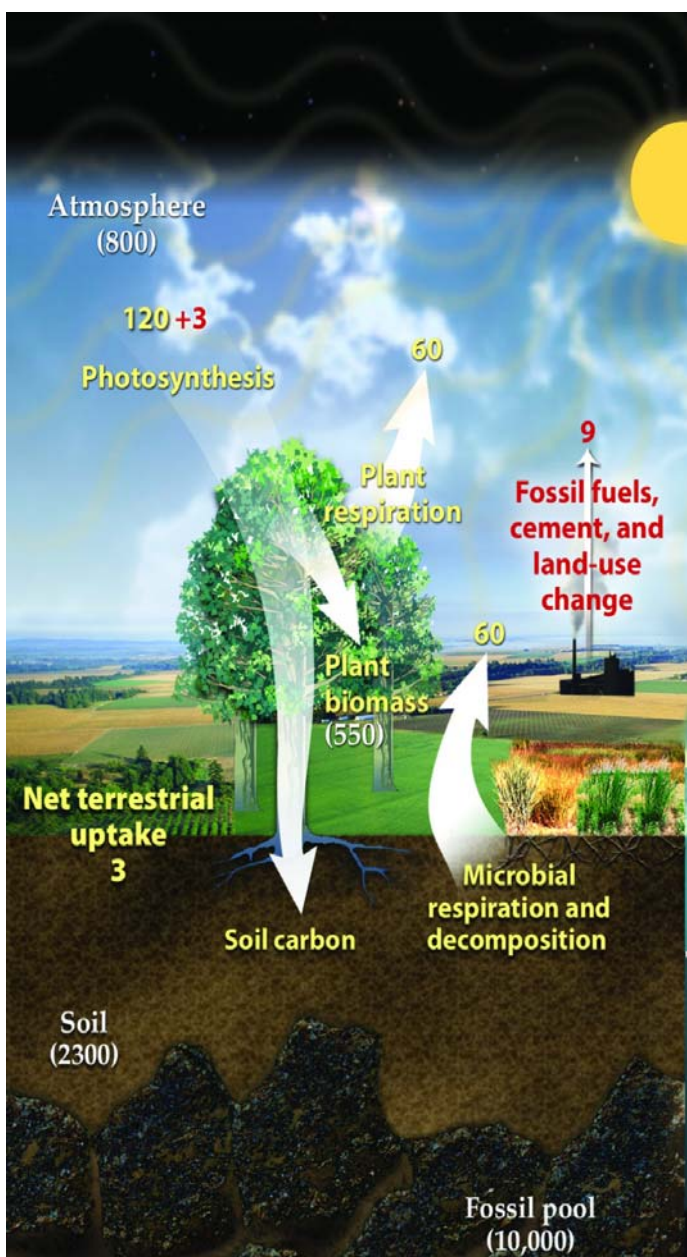
## 1.1 Suelos y cambio climático

El cambio climático es uno de los grandes retos de la humanidad para el siglo XXI, ya que las amenazas que plantea han llevado al imposible de reducir drásticamente las emisiones de gases de efecto invernadero o prepararse para los considerables riesgos de un aumento global de las temperaturas (Poortinga et al., 2012). Este aumento de la temperatura de la Tierra se produce por el enriquecimiento en gases de efecto invernadero producido por las actividades humanas (IPCC, 2001). Aunque no existe un consenso sobre las consecuencias de este cambio climático, algunos de los escenarios de estudio contemplan el aumento de fenómenos meteorológicos extremos, un previsible aumento del nivel del mar, extinción de especies, pérdida de los ecosistemas, cambios en los vectores de enfermedades, reducción de la productividad agrícola... (IPCC, 2007) por lo que parece necesario desarrollar estrategias para mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero, que son las responsables del incremento de las temperaturas (Lal, 2004a). Desde el punto de vista económico, el informe Stern estima que el coste del cambio climático será mucho mayor de lo esperado, suponiendo una pérdida de al menos un 5% del consumo per capita mundial, pudiendo llegar al 20% (Stern, 2006).

El principal gas de efecto invernadero, por su contenido en la atmósfera e importancia en el aumento de las temperaturas, es el CO<sub>2</sub> (Bryant, 1997). Debido a esto, el ciclo global de carbono ha adquirido un enorme interés en el desarrollo de programas de mitigación del efecto invernadero (Lal, 2004b). La transferencia de carbono (en estado de gas, de carbono orgánico o inorgánico) entre la biosfera, litosfera, hidrosfera y atmósfera, constituye el ciclo del carbono (Sigman y Boyle, 2000). Este ciclo global del carbono depende de un gran número de relaciones, entre fuentes y sumideros, que operan tanto a corto como a largo plazo (Boucot y Gray, 2001). Normalmente se relaciona el incremento del CO<sub>2</sub> atmosférico con la quema de combustibles fósiles (Wuebbles y Jain, 2001), es decir, con la liberación de parte del carbono almacenado en la geosfera. Sin embargo, la importancia del ciclo del carbono del suelo en el ciclo global del carbono se está poniendo de relevancia (Giardina y Ryan 2000; Bellamy et al., 2005; Almagro et al.

2009; Lal 2011). De hecho, el suelo es el segundo reservorio de carbono terrestre (Lal, 2004b), con un contenido total de 2500 billones de toneladas en los primeros dos metros de profundidad (Batjes, 1996 y 1998).

**Figura 1.1 Esquema del ciclo de carbono terrestre. Fuente: U.S. Department of Energy (DOE). Office of Science Office of Biological and Environmental Research. (2008).**



La respiración del suelo es uno de los flujos de carbono más importantes en los ecosistemas terrestres (Davidson et al., 2002), representando una fuente de emisiones de CO<sub>2</sub> entre cinco y diez veces más importante que la quema de combustibles fósiles (IPCC, 2007; US DOE, 2008). Raich y Schlesinger (1992) apuntan una correlación positiva entre una mayor velocidad de respiración edáfica y una creciente acumulación de gases invernadero, con la temperatura global. La reducción del carbono orgánico del suelo contribuye significativamente a las emisiones globales de CO<sub>2</sub> (Bellamy et al., 2005), constituyendo un aumento de  $78 \pm 12$  Pg de C a la atmósfera (Lal, 2004). De hecho, teniendo en cuenta las estimaciones realizadas, para compensar el balance entre el incremento atmosférico y la fijación de carbono por el océano, se hace necesaria la existencia de un sumidero terrestre (Bacastow y Keeling, 1973, Oeschger et al., 1975). Sin embargo, el papel del suelo como sumidero de carbono también se está evaluando (Maestre y Cortina, 2003; Mermut, 2003; Heras et al., 2005). Según Battle et al., 1996 y Keeling et al., 1996 la fijación biológica del CO<sub>2</sub> podría exceder a la tasa de mineralización de la materia orgánica, configurando los sistemas terrestres como sumideros de carbono. Por todo esto, la fijación de carbono en los sedimentos terrestres podría ser mucho mas importante que lo estimado actualmente (Stallard, 1998). Es decir, el papel de los sistemas terrestres y, en especial, del suelo en el ciclo global del carbono esta aún sometido a discusión. Sin embargo, esta parte del ciclo podría ser la piedra angular de los futuros modelos de cambio climático (González-Ubierna et al., 2013b).

La respiración del suelo está fuertemente controlada por los factores climáticos (Kechavarzi et al., 2010), entre los que destacan la temperatura y la humedad edáfica. En estudios realizados en climas templados, estos dos factores explican un 89% de la variabilidad en la respiración del suelo (Qi and Xu, 2001; Fang and Moncrieff, 2001). En sistemas áridos y semiáridos, la respiración del suelo está influida, además, por la respuesta frente a los pulsos de precipitación, conocido como efecto Birch, especialmente durante prolongados periodos de sequía (Davidson et al., 2000; Almagro et al., 2009). Además, para el contexto de cambio climático, el panel intergubernamental de expertos pronostica un incremento en la temperatura y la modificación de los patrones de precipitación lo que producirá un incremento en las emisiones de CO<sub>2</sub> del suelo (Jabro et al., 2008; Deng et al., 2010).

Una de las regiones más sensibles frente al cambio climático es el área mediterránea, cuyos suelos ocupan alrededor de 2.75 millones de km<sup>2</sup> (Rambal, 2001). Para esta zona las estimaciones internacionales sugieren para los suelos mediterráneos en los próximos 30 años un incremento de 1°C y entre un 15% y un 20% menos de agua disponible (IPCC, 2001). Además, se prevé un aumento de la irregularidad climática por lo que se alternaran sucesos meteorológicos extremos, con un incremento de los periodos de sequía y de los eventos de precipitaciones torrenciales (Giorgi, 2006). Estos cambios potenciarán los procesos erosivos y el déficit hídrico (Nunes y Seixas, 2003), ya de por sí importantes en este área, y, por tanto, aumentará el riesgo de desertificación. En estos suelos con déficit hídrico, la respiración es el principal proceso de pérdida de carbono (Conant et al., 2000), por lo que todos estos cambios alterarán el ciclo del carbono edáfico, generando un aumento considerable de las emisiones de CO<sub>2</sub>.

Por otro lado, debido al manejo histórico de estos suelos, el uso agrícola es el mayoritario, es considerado como un agroecosistema fundamental (Koulouri y Giourga, 2007). Sin embargo, en esta área se lleva produciendo un intenso cambio en el uso y manejo de los suelos agrícolas (Millenium Ecosystem Assessment, 2005). El tipo de uso del suelo, así como las prácticas de manejo que se lleven a cabo sobre él, pueden conllevar cambios significativos en el ciclo del carbono edáfico. Janssens et al. (2005) y Schulze et al. (2010) han puesto de relevancia una pérdida de carbono orgánico en suelos europeos debida a los cambios en el uso del suelo y en las prácticas de manejo agrícola. La sinergia de los cambios ambientales y los cambios de uso y manejo pueden configurar los suelos agrícolas mediterráneos como una importante fuente de emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmósfera. Por ello, se hace necesaria una revisión de las prácticas que se están llevando a cabo sobre estos suelos. Un correcto uso y manejo de los suelos y, en especial, de los suelos agrícolas podría configurar éstos como sumideros o reservorios de carbono (Lal, 2011).

La aplicación de residuos urbanos biodegradables se ha adoptado como una estrategia para mejorar la calidad de los suelos incrementando su contenido en materia orgánica. Al incrementarse el contenido en materia orgánica se reduce la erosión del suelo, se aumenta el contenido en humedad y se mejora la estructura (Lal y Kimble, 1999). Además, la incorporación del carbono de estos residuos al suelo puede configurarle como un reservorio de carbono, evitando la emisión de CO<sub>2</sub> a la atmósfera

(Dere y Stenhouwer, 2011). El uso de este tipo de enmiendas está especialmente recomendado en suelos mediterráneos, debido a que han sufrido procesos de degradación severos, acompañados de un descenso gradual de la materia orgánica debido a las prácticas agrícolas (Fernández et al. 2009). Sin embargo, el uso de enmiendas procedentes de residuos urbanos biodegradables conlleva numerosos riesgos ambientales, tales como: presencia de metales pesados (Cai et al., 2007a; Haynes et al., 2009), contaminantes orgánicos (Stevens et al., 2003; Sánchez-Brunete et al., 2007) o a su posible impacto negativo sobre los ciclos biogeoquímicos del suelo (Hemmat et al., 2010), entre otros.

## **1.2 El problema de los residuos orgánicos biodegradables**

En el año 2008, la Unión Europea (EU de los 27) generó más de 82 millones de toneladas de residuos orgánicos, y se espera que sean unos 88 millones en 2020 (SEC, 2010), de los cuales 10 millones correspondieron a lodos de depuradora (EC, 2008). Del total de residuos sólidos urbanos generados en un área metropolitana, alrededor del 44% son de naturaleza orgánica (Plan Nacional de Residuos Urbanos (PNRU), 2000 – 2006). La Comisión Europea define los residuos orgánicos biodegradables como “los residuos de parques y jardines, residuos de comida y cocina procedentes de los hogares, restaurantes, servicios de restauración y venta al por menor y residuos similares de plantas de procesado de alimentos”. En España, los componentes orgánicos suponen un 44,06% del total de basura producida en áreas urbanas (Plan Nacional de Residuos Urbanos (PNRU), 2000 – 2006). Debido a esta naturaleza orgánica, estos residuos son separados en plantas de tratamiento, compostados y utilizados como enmiendas (70.000 Tn/año en la ciudad de Madrid). Por su parte, los lodos de depuradora son un residuo altamente complejo procedente del tratamiento de las aguas residuales urbanas en plantas depuradoras (Uggetti et al., 2012). Los procesos básicos de purificación a los que son sometidas las aguas producen una gran cantidad de biomasa microbiana. Esta biomasa se recicla varias veces, se retira y forma los lodos de depuradora (Haynes et al., 2009). Después de su producción, el lodo se somete a un proceso de digestión bacteriana, que consiste en una descomposición de la materia orgánica fácilmente degradable (Arnaiz et al., 2006). Este

proceso puede realizarse de modo aeróbico o anaeróbico, dando origen a dos tipos de lodos diferenciados (Banegas et al., 2007). La digestión anaerobia es empleada en todo el mundo como el proceso más importante para la estabilización de los lodos, y es casi universal en plantas de gran tamaño y flujo de agua (Liu et al., 2012). El proceso aeróbico se utiliza en plantas pequeñas (Kelessidis y Stasinakis, 2012). Al final, los materiales orgánicos constituyen alrededor del 40-80% de su peso seco (Strachan et al., 1983). En España, la digestión anaerobia supone el 68%, mientras que el resto se divide en digestión aerobia (14%), estabilización química (8%) y no estabilización (8%) (Roig et al., 2012).

De acuerdo con la directiva marco del agua, Directiva 2008/98/EC (CEC, 2008), el manejo y tratamiento de estos residuos es una prioridad dentro de las políticas ambientales de la Unión Europea. De hecho, la gestión de estos residuos supone el 60% del coste total del tratamiento de aguas residuales (Wei et al., 2003). Las principales salidas contempladas en las políticas europeas para estos residuos son su aplicación a suelos como enmienda agrícola o su incineración (Schowanek et al., 2004 y SEC, 2010), dado que su almacenamiento en vertederos estará prohibido a partir de 2020 por la directiva 99/31/EC (CEC, 1999). La Comisión Europea considera la aplicación de estos residuos a suelos agrícolas como la solución menos costosa económicamente (Hogg et al., 2002a) y, por tanto, es la principal salida en el ámbito comunitario (Albiach et al., 2001). Este mismo autor señala que su alto contenido de materia orgánica ha reforzado su uso como enmienda orgánica del suelo en la agricultura, especialmente en las zonas mediterráneas áridas y semi-áridas. Además, el uso de estos residuos como enmienda agraria conlleva el reciclado de numerosos nutrientes esenciales para la producción vegetal (Smith, 1996; Lundin et al., 2004). En España, el 70% de los lodos de depuradora producidos se aplica en agricultura (EC, 2010), mientras que tan solo un 20% de los residuos orgánicos urbanos se compostan para su uso como enmienda (EC, 2004).

Existen numerosos trabajos científicos sobre el efecto de los residuos orgánicos biodegradables tras su aplicación al suelo (Fytli y Zabaniotou, 2008; Haynes et al., 2009). Se ha relacionado la aplicación de estos residuos sobre suelo agrícola con una mejora de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Beck et al., 1996). También se han estudiado los efectos nocivos, como la presencia de metales pesados (Gaskin et al., 2003), contaminantes orgánicos (Aparicio et al., 2009) y microorganismos patógenos (Pepper et

al., 2006). Más recientemente, se ha comenzado a estudiar el problema de los contaminantes emergentes (Hospido et al., 2010) y el impacto sobre los ciclos biogeoquímicos (González-Ubierna et al., 2012).

### **1.3 Limitaciones ambientales al uso de residuos como enmienda agrícola**

#### **1.3.1 Contenido en metales pesados**

Una de las principales limitaciones para la aplicación de lodos de depuradora al suelo es su contenido en metales pesados (Pathak et al., 2009). Debido a los riesgos para la calidad de los cultivos y del medio ambiente y a su impacto en la salud humana (Devkota y Schmidt, 2000; McBride, 2003), este problema fue uno de los primeros en ser abordado desde la comunidad científica. En España hay grupos de investigación consolidados con amplia experiencia en estos aspectos, destacan los siguientes: el grupo liderado por el profesor Alfredo Polo en el Instituto de Ciencias Agrarias del CSIC, el grupo dirigido por MaríaTeresa Felipó, Catedrática de Edafología de la Universidad de Barcelona que es uno de los grupos pioneros en el estudio de lodos de depuradora con fines agrícolas. El grupo de Enzimología y Biorremediación de Suelos y Residuos Orgánicos, dirigido por la profesora Hernandez del CEBAS. En la Comunidad de Madrid destacan, además de anteriormente mencionados, los siguientes grupos: el grupo encuadrado en el IMIDRA, con Carmen Lobo como investigadora responsable y el liderado por María del Mar Delgado Arroyo en el Departamento de Medio Ambiente del INIA. Por tanto, ha sido también el problema más regulado por la normativa europea (CEC, 1975; CEC, 1978; CEC, 1986; CCA, 1991a). Se ha estimado que la presencia de metales en lodos de depuradora es, en promedio, entre 0,5-2% (Lester et al., 1983) del peso seco, pero puede llegar a 6% en algunos casos. Por su parte, las concentraciones totales de metales pesados en el compost de residuos sólidos urbanos son generalmente menores que en los lodos de depuradora, en aproximadamente un 30-50%, excepto para Pb (80%) (Smith, 2009). De hecho, no se ha encontrado un riesgo potencial por la acumulación de metales pesados en el suelo debido a enmiendas con este tipo de residuos (Qazi et al., 2009; Alvarenga et al., 2009). Los metales más importantes, encontrados en los residuos orgánicos

biodegradables son, por su acumulación en el suelo: Zn, Cd, Cu, Ni, Pb y Cr (Ozores-Hampton et al., 2005). Por otro lado, el contenido en materia orgánica, el pH (Illera et al., 2000), la capacidad de intercambio catiónico (Hansen y Tjell, 1983) o el contenido en carbonatos (Raikhy y Takkar, 1983) del suelo puede tener un importante efecto sobre la movilidad y disponibilidad de los metales. Debido a sus características, la adición de enmiendas procedentes de residuos orgánicos con un bajo contenido de metales en suelos calcáreos mediterráneos no aumenta la cantidad de metales móviles (Toribio y Romanyà, 2006; Moreno et al., 1996). Sin embargo, esta capacidad de inmovilización hace que el problema en estos suelos sea la acumulación en capas superiores (Achiba et al., 2009; Jamali et al., 2009).

### **1.3.2 Contenido en contaminantes orgánicos**

La comunidad científica ha mostrado interés más recientemente por la presencia de contaminantes orgánicos (Bodzek et al., 1997; Stevens et al., 2003, Sánchez-Brunete et al., 2007) y, dentro de ellos, en los llamados contaminantes emergentes (Clarke y Smith, 2011). Los residuos orgánicos biodegradables tienden a concentrar estos contaminantes potenciales con baja solubilidad en agua y alta capacidad de adsorción (Bontoux et al., 1998; Gibson et al., 2005). La biodisponibilidad de un contaminante orgánico depende de procesos fisicoquímicos tales como la adsorción, el transporte, o procesos biológicos (Lawrence et al., 2000; Yu et al., 2006), aunque la adsorción se reconoce generalmente como clave (Lawrence et al., 2000; Yu et al., 2006). Algunos autores han demostrado que el alto contenido de carbono orgánico soluble de las enmiendas orgánicas aumenta la movilidad de los contaminantes a lo largo del perfil del suelo (Graber et al., 1995 o Rodríguez-Liébaña et al., 2011, en suelos mediterráneos), reduciendo su adsorción al competir éstos con los compuestos orgánicos por los sitios de adsorción (Flores-Céspedes et al., 2006). A la luz de estos estudios, han ido surgiendo las regulaciones que han reducido los valores de estos contaminantes en los residuos orgánicos biodegradables (Wild et al., 1990; Clarke et al., 2010).



### **1.3.3 Microorganismos exógenos**

La adición de residuos orgánicos biodegradables al suelo implica la presencia de organismos exógenos en el mismo (Perucci, 1992), que se refleja en un aumento de la biomasa microbiana (Sánchez-Monedero et al., 2004) y en las actividades enzimáticas (Albiach et al., 2000; Fernandes et al., 2005). Además, por su origen, los residuos orgánicos biodegradables llevan gran número de microorganismos patógenos (Sidhu y Toze, 2009); según Pepper et al. (2006) y van Frankenhuyzen et al. (2011), los principales patógenos que se encuentran en los lodos de depuradora son bacterias (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* y *Yersinia*), virus (adenovirus, virus de la hepatitis A y E, astrovirus, rotavirus, calicivirus y enterovirus) y protozoos (*Cryptosporidium* y *Giardia*). Otro problema que cada vez está adquiriendo más interés es el aumento de microorganismos resistentes a antibióticos, así como la aparición de endotoxinas y priones (Brooks, 2005; Aryal y Reinhold, 2011).

### **1.3.4 Impacto sobre los ciclos biogeoquímicos**

La aplicación de este tipo de residuos aumenta las tasas de mineralización (Wong et al., 1998; Bernal et al., 1998) y la biomasa microbiana (Lima et al., 1996), y modifican los diferentes pool de nutrientes en el suelo (Petersen et al., 2003; Tarrasón et al., 2008; González-Ubierna et al., 2012). Se favorece el desarrollo vegetal (Ojeda et al., 2003) y los nutrientes que aportan ayudan, además, a mejorar la actividad microbiana del suelo (Lima et al., 1996; Fernandes et al., 2005), aunque, como ya se ha indicado, la presencia de metales pesados y contaminantes orgánicos en los residuos puede tener un efecto negativo sobre las poblaciones microbianas (Martensson y Witter, 1990). Por tanto, la aplicación de estos residuos al suelo influye significativamente en los ciclos biogeoquímicos que tienen lugar en su interior. En general existe un efecto directo de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables, principalmente en los ciclos del carbono, nitrógeno y fósforo en el suelo.

Se ha documentado el aporte de diferentes formas de nitrógeno orgánico e inorgánico (Smith et al., 1998), que contribuirían a incrementar el volumen de nitrógeno reactivo total en el suelo, que, mayoritariamente, forma parte de la materia orgánica

(Navarro, 2003). La mineralización de la materia orgánica por los microorganismos del suelo libera grandes cantidades de nitrógeno en forma de amonio, que puede ser transformado por procesos de nitrificación en nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Kleber et al., 2000). Igualmente, este proceso conduce a un aumento de las emisiones de óxidos de nitrógeno (Roelle y Aneja, 2002). Este aumento de nitrógeno en el suelo puede causar la saturación del sistema, provocando una desestabilización del ciclo del nitrógeno (Aber et al., 1989; Rasmussen, 1998). Los nitratos son altamente móviles en el suelo y, si hay un exceso, pueden causar problemas de contaminación de las aguas subterráneas (Kirchmann et al., 2002; Habteselassie et al., 2006) llegando incluso a plantear riesgos para la salud humana (Townsend y Howarth, 2010). Además se han encontrado acumulaciones significativas de nitrógeno inorgánico semanas después de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables (Petersen et al., 2003). El efecto de la aplicación depende del origen del residuo y de su composición (Mendoza et al., 2006; Jorge-Mardomingo et al., 2010); los residuos más compostados pueden reducir el riesgo de lixiviación de nitrógeno en el suelo (Correa et al., 2006), mientras que residuos más simples, como los lodos secados térmicamente, parecen causar un aumento del nitrógeno orgánico fácilmente mineralizable (Smith y Durham, 2002; Tarrason et al., 2008). En los suelos calcáreos mediterráneos la mineralización del nitrógeno es mayor para los lodos tratados aeróbicamente y para suelos de textura ligera (Hernández et al., 2002).

Debido al contenido limitado de fósforo en los ecosistemas terrestres, su reciclaje mediante la aplicación de residuos orgánicos biodegradables al suelo, debería potenciarse (Krogstad et al., 2005). Sin embargo, el uso de diferentes floculantes en los tratamientos de aguas residuales, ricos en Al y Fe y su presencia en los lodos reduce el fósforo disponible en el suelo tras su aplicación (Kalbasi y Karthikeyan, 2004). A pesar de esto, Krogstad et al. (2005) describió una considerable acumulación de fósforo en los suelos; mientras que Cheng et al. (2007) encontró una mayor cantidad de fósforo en las plantas cultivadas en suelos enmendados con residuos orgánicos biodegradables.

En cierta medida, las condiciones del suelo y las características de los residuos que influyen en la mineralización y disponibilidad del nitrógeno se aplican también al ciclo del fósforo (Warman y Termeer, 2005).

Los efectos de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables en el ciclo de carbono deben ser analizados de forma detallada por su interés para nuestro estudio.

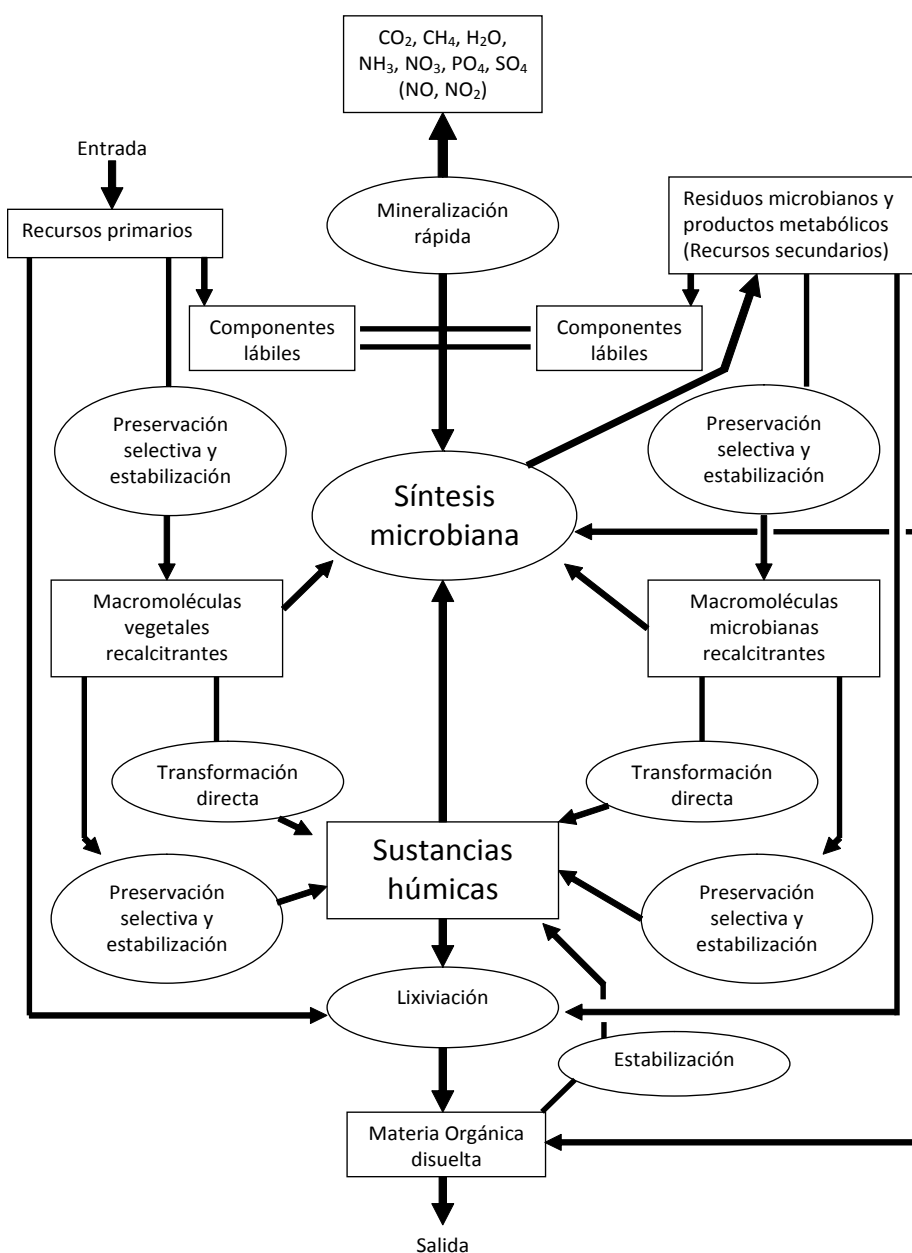
## 1.4 Implicaciones en el ciclo del carbono

El alto contenido de carbono orgánico de los residuos orgánicos biodegradables ha reforzado su uso como enmienda orgánica en suelos agrícolas, especialmente en zonas mediterráneas, áridas y semiáridas donde las altas temperaturas del verano junto con las prácticas de cultivo intensivas han originado una disminución constante en la materia orgánica del suelo (Albiach et al., 2001). La aplicación de residuos orgánicos biodegradables al suelo aporta grandes cantidades de materia orgánica (Fernández et al., 2007b), recurso primario para el funcionamiento del ciclo de carbono edáfico (Figura 1.1).

El carbono aportado se puede diferenciar químicamente en compuestos lábiles (azúcares, aminoácidos y ácidos grasos) y carbono recalcitrante (compuestos polimerizados de elevado peso molecular); además, parte del carbono aportado, principalmente el de bajo peso molecular, se lixiviará, ayudado por el alto contenido en agua de los residuos, incrementando la materia orgánica soluble del suelo. Es especialmente relevante el aporte de formas solubles (Pascual et al., 1998; Franco-Otero et al., 2011) y lábiles (Pedra et al., 2007), por el bajo contenido de estas formas en suelos agrícolas (Morita, 1988). Los compuestos lábiles sufren un rápido proceso de mineralización en su mayor parte (Van Veen et al., 1985; Flavel et al., 2005), ya que son consumidas por las poblaciones microbianas en horas o días (Lorenz et al., 2007). Por tanto, las enmiendas con un alto contenido de materia orgánica poco polimerizada producirán un rápido crecimiento de la biomasa microbiana (García-Pausas y Paterson, 2011) y un aumento de las emisiones de CO<sub>2</sub> en el corto plazo (Hernández-Apaolaza et al., 2000). En resumen, las formas recalcitrantes, junto con una parte de las formas simples, se conservan más tiempo en el suelo. Por tanto, las características de los residuos aplicados son cruciales en los procesos que se producirán en el suelo (Smith et al., 2008). Dependiendo del tipo de residuo aplicado, la distribución de las formas de carbono varía (Fernández et al., 2007), así como su grado de polimerización (Albiach et al., 2001; Marando et al., 2011). Así, las enmiendas con formas poco complejas de carbono sufrirán una rápida mineralización, debido a su mayor contenido en formas solubles y lábiles (Merrington et al., 2003).

Otro aspecto esencial en el comportamiento temporal de los residuos aplicados es la dosis de aplicación (Pascual et al., 1998), ya que el proceso de mineralización es más rápido en enmiendas a dosis bajas (Sommers et al., 1979).

**Figura 1.2 Esquema del funcionamiento del ciclo del carbono en el suelo (Zech et al., 1997)**



Una de las propiedades del suelo decisiva en la conservación de las formas de carbono en el suelo es la estructura. La aplicación de residuos orgánicos biodegradables al suelo mejora la estructura del suelo y la estabilidad de los agregados (Ojeniyi y Dexter, 1979; Albiach 2001, Ojeda et al., 2008). El número y tamaño de los agregados, así como su estabilidad, dependen de la unión que se establece entre la materia orgánica y las partículas coloidales (principalmente arcillas) (Lynch y Bragg, 1985; Quirk y Murray, 1991). Se ha relacionado el contenido en carbono del suelo y su tasa de descomposición con el tamaño de los agregados (Elliot, 1986; Jha et al., 2012) y con su estabilidad (Six et al., 2000; Yang et al., 2007). Asimismo, se ha relacionado la ruptura de estos agregados con la pérdida de carbono orgánico del suelo (Ashagrie et al., 2007), aumentando la emisión de CO<sub>2</sub> y la biomasa microbiana (Navarro-García et al., 2012). Además, se ha documentado un incremento en el carbono orgánico, especialmente en la fracción de ácidos húmicos en los agregados después de la aplicación de fertilizantes (Lugato et al., 2010). Por tanto, la aplicación de los residuos al suelo mejora la estabilidad de los agregados, contribuyendo a mantener el carbono en el suelo y evitando así una mineralización rápida.

El carbono recalcitrante no mineralizado en el corto plazo (mineralización lenta), sufre procesos de descomposición microbiana, aunque mucho más dilatados en el tiempo, contribuyendo también a la emisión de CO<sub>2</sub>, sobre todo en condiciones de altas temperaturas (Zhao et al., 2008). Las condiciones ambientales tienen una fuerte influencia en este proceso, ya que se ha demostrado que las altas temperaturas producen una mineralización mayor de formas recalcitrantes (Bol et al., 2003). Otra parte de este carbono sufrirá transformaciones que lo configuren como parte de la materia orgánica estable del suelo (humificación) (Jacinthe et al., 2002), o quedará protegida en los agregados estructurales del suelo, incluyéndose también como materia orgánica edáfica. En los suelos mediterráneos se ha comprobado un aumento de las concentraciones de materia orgánica después de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables, en particular en las fracciones húmicas, que son las más persistentes y difíciles de degradar (Albiach et al., 2001; Zinati. et al., 2001; Heras, 2005).

La materia orgánica soluble del suelo también aumentó con la adición, ya que los residuos aportan gran cantidad de formas solubles de carbono (García-Orenes et al., 2005), fundamentalmente carbohidratos. El aporte variará en función del tipo de residuo

aplicado (Fernandez et al., 2007b). Esta fracción de la materia orgánica edáfica puede originar contaminación de los cursos de agua y de los acuíferos, al escapar del perfil del suelo, debido a su alta movilidad (Ashworth y Alloway, 2004). Sin embargo, parte de la fracción soluble del carbono sufre procesos de estabilización microbiana, incorporando este carbono a la materia orgánica estable del suelo, o de mineralización (Ros et al., 2003). La materia orgánica estable del suelo también sufre procesos de degradación y transformación microbiana, aunque mucho más lentos (Muñoz et al., 2013; Xu et al., 2010).

Los microorganismos del suelo desempeñan un papel fundamental en los ciclos biogeoquímicos (Obbard, 2001; Sheppard et al., 2005), y son muy sensibles a las modificaciones en el equilibrio del suelo (Saviozzi et al., 2002). Sin embargo, son todavía hoy un mundo casi desconocido, de hecho sólo se ha caracterizado entre el 1-10% de los microorganismos (Brock, 1987; Torsvik y Øvreas, 2007) y el conocimiento de su distribución y actividad es limitado (Eickhorst y Tippkötter, 2008), especialmente en suelos mediterráneos (Fioretto et al., 2006). Los microorganismos del suelo responden rápidamente a los factores de estrés mediante el ajuste de sus tasas de actividad, su biomasa y la estructura de la comunidad (Schloter et al., 2003). En cuanto al ciclo de carbono en el suelo, la microbiota del suelo es responsable de la mayoría de los cambios que se producen en la materia orgánica (Neill y Gignoux, 2006). La aplicación de materia orgánica altera significativamente la estructura microbiana del suelo (Waldrop y Firestone, 2004), lo que modifica el funcionamiento del ciclo de carbono (Schimel y Schaeffer, 2012), aumentando la biomasa microbiana (Lima et al., 1996.), modificándose las tasas de nitrificación y las actividades enzimáticas (Fernandes et al., 2005; Jorge-Mardomingo et al., 2013), a la vez que altera la biodiversidad de especies e introduce microorganismos exógenos (Jianlong y Jiazhao, 2005; López-Valdez et al., 2010), provocando un aumento de la mineralización neta (Pedra et al., 2007), de las tasas de respiración (González-Ubierna et al., 2012) e intensificándose los procesos de humificación, lo que determinará la dirección del ciclo del carbono en el suelo. Estos efectos derivan de la introducción de un gran número de microorganismos y de la introducción de grandes cantidades de nutrientes (Sheppard et al., 2005).

La aplicación de residuos orgánicos biodegradables produce el aumento de la respiración del suelo (Ajwa y Tabatai, 1994; Song y Lee, 2010), debido al aumento de la

producción de CO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> (Fernandes et al., 2005; Sheppard et al., 2005). Si bien el aumento en las emisiones de metano se produce en el muy corto plazo (horas), después de lo cual la tasa vuelve al nivel basal, el impacto sobre las emisiones de CO<sub>2</sub> se mantiene a largo plazo.

En cuanto al proceso de mineralización, las emisiones de compuestos de carbono desde el suelo se suele expresar como emisión de CO<sub>2</sub> únicamente, ya que la emisión de metano en la mayoría de los suelos es muy baja (Knightley et al., 1995) especialmente en suelos mediterráneos.

La respiración del suelo es la suma del componente autótrofo producido por las raíces y la rizosfera asociada y un componente heterótrofo producido por la microbiota del suelo y su actividad descomponedora de compuestos orgánicos procedentes de residuos de la superficie del suelo y del perfil del suelo (Bowden et al., 1993; Boone et al., 1998; Epron et al., 2001). En general, la contribución de la macrofauna edáfica al flujo de CO<sub>2</sub> es por lo general sólo un porcentaje pequeño (Andren y Schnurer, 1985; Konate et al., 2003; Ke et al., 2005).

Numerosas medidas sugieren que el carbono orgánico del suelo podría ser determinante en la respiración del suelo, particularmente a escalas temporales largas (Chen et al., 2010). Además, la calidad o composición de la fuente de carbono posee una influencia decisiva en los pulsos de CO<sub>2</sub> (Conant et al., 2000 y 2004; Balogh et al., 2011). Algunos autores han puesto de manifiesto que los pulsos de CO<sub>2</sub> derivan de la oxidación microbiana de la materia orgánica lábil, que estará más disponible al producirse la ruptura de los agregados del suelo tras pulsos de secado y rehumectación (Adu and Oades, 1978; Six et al., 2004).

Como ya se ha descrito, las variaciones en las tasas de respiración están relacionadas con los cambios en la microbiota del suelo producidos por la aplicación de la enmienda (Franco-Otero et al., 2011). Por tanto, dependiendo de la cantidad de residuo aplicado (dosis) (Quemada y Menacho, 2001; Gonzalez-Ubierna et al., 2012), y su composición (Fernández et al 2007, González-Ubierna et al., 2012), las tasas de mineralización del carbono variarán. Un alto contenido en formas de carbono solubles o lábiles en el residuo supone mayores tasas de respiración del suelo, por ser las fracciones más fácilmente mineralizables (Van Veen et al., 1985; Flavel et al., 2005). Hernández-Apaolaza et al. (2000) indicaron que la aplicación de enmiendas con formas de carbono

más polimerizados tienen menor influencia sobre la actividad respiratoria inicial que otras con materia orgánica más simple. Por tanto, el efecto de las técnicas de estabilización de los residuos orgánicos puede mejorar la retención de carbono orgánico en el suelo después de la enmienda (Dere y Stenhouwer, 2011).

Actualmente está bajo revisión el papel de las formas inorgánicas de carbono en la respiración del suelo (González-Ubierna et al., 2012). No existe un consenso sobre la cantidad de carbono inorgánico del suelo, algunos autores estiman 695 PgC (Batjes, 1996) 945 Pg C (Lal, 2004), o 1.738 PgC (Eswaran et al., 1995), en cualquier caso es el tercer reservorio de carbono en los ecosistemas terrestres. Este tipo de carbono se almacena sobre todo en regiones áridas y semiáridas (Díaz-Hernández et al., 2003), suponiendo una parte fundamental del ciclo de carbono del suelo y del global (Emmerich, 2003). Wang et al. (2010) señala además que se está produciendo una subestimación del pool de carbono inorgánico, ya que los estudios únicamente tienen en cuenta la capa superficial del suelo (1m), pero existe una gran cantidad de carbono inorgánico entre 1 y 3 metros en ambientes áridos. En el área mediterránea, el carbono inorgánico está presente en los suelos como fragmentos de rocas carbonatadas y como carbonato cálcico secundario en horizontes cálcicos y petrocálcicos (Díaz-Hernández et al., 2003).

Existen pocos estudios sobre el efecto de la aplicación de residuos orgánicos sobre las formas inorgánicas de carbono en el suelo, y en la mayoría de ellos tan solo se dan algunos datos, sin entrar en su discusión (Aggelides y Londra, 2000; Bastida et al., 2007; Hemmat et al., 2010). La aplicación de los residuos al suelo reduce sus valores de pH (Bernal et al., 1992; Antolín et al., 2005), produciendo una disolución de las formas inorgánicas de carbono. Este efecto es producido por el menor valor de pH del residuo, más bajo que el del suelo en áreas calcáreas (Pascual et al., 2007), y por la formación de ácidos orgánicos, originados por el desarrollo de las poblaciones microbianas (Kaschl et al., 2002; Franco-Otero et al., 2011). Debido a la reducción del pH, el balance carbonato-bicarbonato (Figura 1.2) se modifica, produciendo la emisión de CO<sub>2</sub> procedente del carbono inorgánico del suelo (Kowalski et al., 2008; Serrano-Ortiz et al., 2010). En la actualidad se está revisando el impacto del carbono inorgánico en las emisiones de CO<sub>2</sub> del suelo (Wang et al., 2010). Sin embargo, el efecto sobre el carbono inorgánico varía mucho en función del tipo de residuo aplicado (González-Ubierna et al., 2012) y de la dosis de aplicación (Aggelides y Londra, 2000; Bastida et al., 2007; Hemmat et al., 2010).



Estos trabajos han documentado un efecto dosis-dependiente en los descensos de las formas inorgánicas de carbono del suelo.

Por otro lado, en climas áridos y semiáridos, parte del CO<sub>2</sub> producido en el suelo, o incluso atmosférico, se puede fijar en forma de carbono inorgánico (Schlesinger, 1985; Ruellan, 1999). De hecho, se está revisando la posibilidad de mejorar los procesos de recarbonatación secundaria del suelo como parte de las estrategias para reducir la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico (Renforth et al., 2009 y 2011.), secuestrando al carbono por largos tiempos de permanencia en los suelos (Kalin et al., 1997; Watanabe et al., 2004). Además, este secuestro de carbono requiere una fuente de Ca y/o Mg a partir de una fuente no carbonatada (Emmerich, 2003). Las tasas de acumulación de carbono inorgánico se han estimado entre 0,1 y 12 g CaCO<sub>3</sub> m<sup>-2</sup> por año (Gile et al., 1981; Reheis et al., 1995). Por lo tanto, la aplicación de residuos orgánicos en el suelo en sistemas áridos o semiáridos, con las modificaciones para controlar el pH, puede lograr la generación de formas inorgánicas de carbono inorgánico en el suelo.

Las formas inorgánicas de carbono pueden estar relacionadas con la estabilización de la materia orgánica disuelta. Krull et al. (2001) ha relacionado la presencia de CaCO<sub>3</sub> en el suelo con la estabilización biológica de esta materia orgánica, debido a que el Ca<sup>2+</sup> actúa como puente, permitiendo su unión con las arcillas (Theng, 1976; Baham y Sposito, 1994). Este proceso puede ser especialmente relevante en suelos carbonatados con pH ligeramente básico por su alto contenido en Ca<sup>2+</sup> (Guggenberger y Kaiser, 2003). La disolución del carbono inorgánico producida por la aplicación de los residuos podría generar un mayor contenido en iones Ca<sup>2+</sup> libres, que influyan positivamente en este proceso.

Parece claro que la aplicación de residuos orgánicos biodegradables produce una alteración significativa del ciclo de carbono edáfico en todos sus compartimentos. Sin embargo, se han desarrollado pocos estudios en suelos calcáreos mediterráneos (Albiach et al., 2001; Pérez-Lomas et al., 2010; Franco-Otero et al., 2011). Estos suelos tienen características particulares que implican un comportamiento diferente: su pH moderadamente básico les confiere la capacidad de inmovilizar metales pesados y otros contaminantes presentes en los residuos (Toribio y Romanyà, 2006), y su elevado contenido de carbonato cálcico permite un efecto tampón después de la aplicación. Por otra parte, el clima mediterráneo impone una dificultad doble en los sistemas biológicos:

agua limitada en verano y precipitaciones irregulares (Valladares, 2004), de manera que la dinámica de las poblaciones microbianas, clave de los ciclos biogeoquímicos del suelo, será diferente en virtud de este tipo de clima (Zornoza et al., 2007). Además, el proceso de mineralización de la materia orgánica en ambientes mediterráneos está lejos de ser comprendido, dadas las particularidades climáticas de esta área (Valentini, 2003).

### **1.4.1 Nuevas perspectivas de conocimiento**

En la actualidad hay una falta de conocimiento sobre los procesos que dirigen el ciclo de carbono en el suelo (Trumbore, 2006), especialmente en suelos mediterráneos (Valentini, 2003). Es necesario, por tanto, ampliar los estudios en condiciones mediterráneas, donde los suelos se suelen caracterizar por un bajo contenido de carbono orgánico y cierto nivel de degradación (Hontoria et al., 2004). En estos suelos, los procesos de respiración del suelo no pueden ser representados siguiendo los modelos actualmente empleados (Xu and Qi, 2001), y se hace necesario profundizar y desarrollar metodologías para el estudio y análisis de la respiración del suelo en climas irregulares (Conant, 2010; Scholes et al., 2009). Además, se debería profundizar en el estudio de los procesos de mineralización, humificación y balance global del carbono (Bradford et al., 2008), tras la aplicación de residuos (Saby et al., 2008), así como en el conocimiento de las poblaciones microbianas que son las responsables del funcionamiento del ciclo biogeoquímico. Por último hay que apuntar que no se conoce de manera adecuada la influencia de las formas inorgánicas de carbono sobre las emisiones de CO<sub>2</sub> (Tamir et al., 2011),

Podemos concluir diciendo que aún estamos lejos de conocer los cambios que se producen en el ciclo del carbono tras la aplicación de enmiendas procedentes de residuos orgánicos biodegradables.

# OBJETIVOS



## 2 Objetivos

El reciclado de los residuos orgánicos biodegradables mediante su utilización como enmienda agrícola y el impacto derivado sobre el ciclo de carbono en el suelo hacen necesaria una profundización en el estudio de las modificaciones producidas en el ciclo de carbono edáfico, más aún en el contexto de cambio climático. La escasez de estudios bajo climas mediterráneos, una de las áreas más sensibles ante el escenario de cambio global, está originando una falta de conocimiento en este sentido, que se refleja en la ausencia de normativas que tengan en cuenta estos impactos.

La hipótesis de la que parte la presente Tesis doctoral es que la aplicación de residuos orgánicos biodegradables en suelos agrícolas calcáreos del área mediterránea produce un impacto significativo sobre el ciclo de carbono, que variará en función de la tipología del residuo y de la dosis de aplicación. Además, las particularidades de los suelos mediterráneos harán que este impacto sea diferente al de otras zonas.

Para contrastar esta hipótesis, el objetivo principal del presente trabajo *es evaluar el efecto de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables sobre el ciclo del carbono en suelos agrícolas calcáreos en ambientes mediterráneos*. Para la consecución de este objetivo general se han planteado diferentes objetivos específicos:

1. Estudiar los efectos de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables sobre las formas de carbono del suelo y su evolución en el medio plazo. Este objetivo pretende contestar a las siguientes cuestiones:
  - 1.1. ¿Cómo evolucionan temporalmente las distintas fracciones de materia orgánica tras la aplicación de residuos orgánicos biodegradables?
  - 1.2. ¿Cuál es el efecto del tipo y de la dosis de aplicación de los residuos en los procesos de humificación?
  - 1.3. ¿Cómo influye la aplicación de los residuos en las formas inorgánicas de carbono?

2. Estudiar el efecto de la aplicación de los residuos sobre las emisiones de CO<sub>2</sub> edáficas. Dada la especificidad del proceso de respiración del suelo en climas mediterráneos y la escasez de estudios sobre él, se han abordado tres cuestiones:
  - 2.1. ¿Cómo influyen las variables climáticas en el proceso de respiración en el caso particular de un suelo mediterráneo?
  - 2.2. ¿Cómo se modifican los patrones de respiración tras la aplicación de residuos orgánicos biodegradables?
  - 2.3. ¿Cómo influye la aplicación de los residuos en la emisión de CO<sub>2</sub> del suelo?

# **MATERIAL Y MÉTODOS**





### 3 Material y métodos

Los datos se han obtenido mediante el diseño y desarrollo de dos proyectos de investigación diferentes. Cada uno de ellos persiguió un objetivo concreto, pero se complementaron en la búsqueda de un objetivo común: estudiar el efecto que tiene la adición de enmiendas orgánicas procedentes de residuos urbanos sobre el ciclo de carbono en el suelo.

El primer proyecto: “Impacto sobre el cambio climático de la aplicación de lodos de depuradora al suelo. Efectos en el secuestro de carbono” (CGL2006-13915/CLI), financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) y desarrollado entre los años 2007 y 2009. En él se buscó estudiar el efecto de las diferentes dosis de aplicación y tipo de enmienda orgánica aplicada sobre el ciclo del carbono en el suelo. Para ello se utilizaron dosis crecientes (40, 80 y 160 Mg ha<sup>-1</sup>) de lodos de depuradora procedentes de dos EDAR con distinto sistema de tratamiento (aerobio y anaerobio).

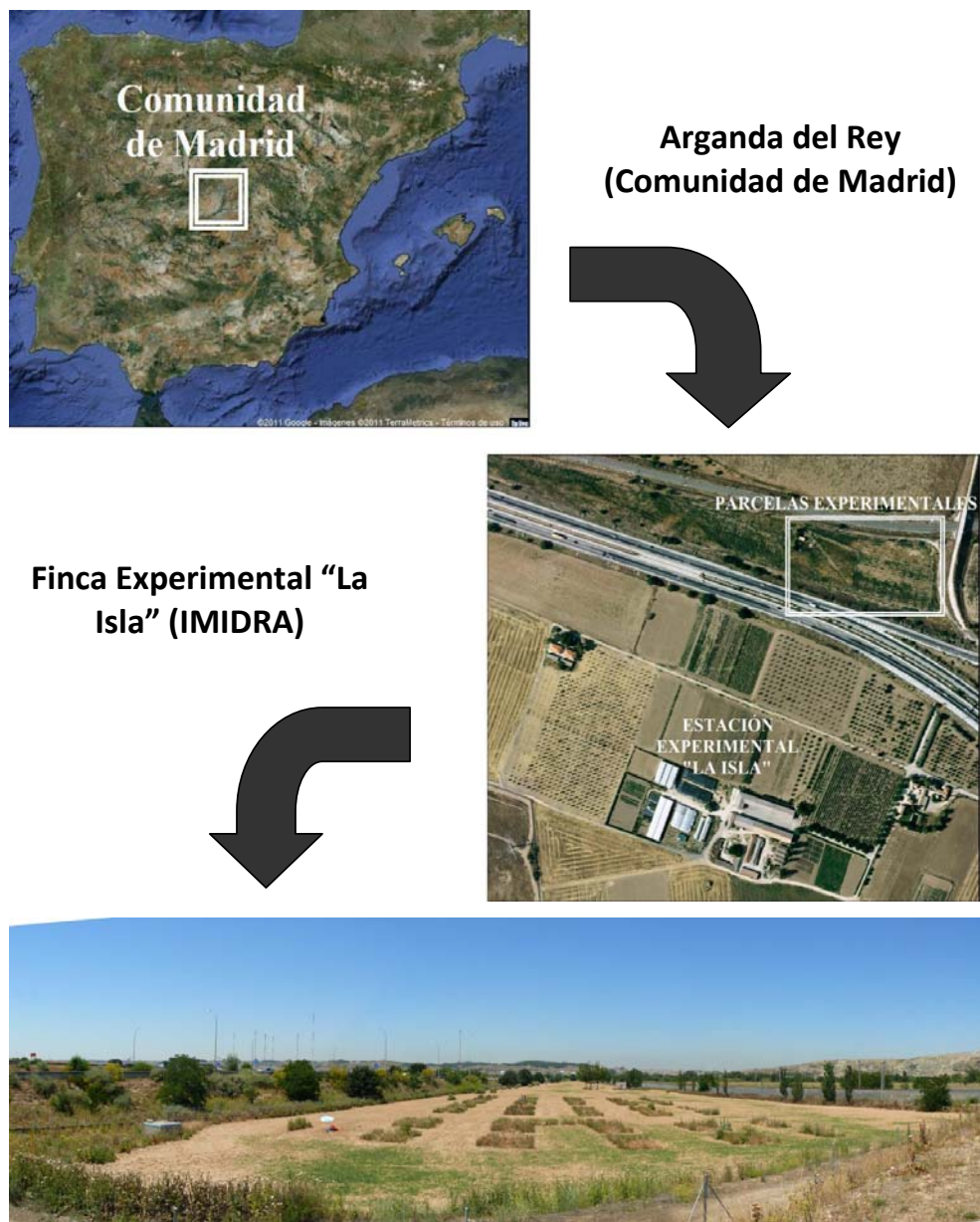
Con la experiencia adquirida en este proyecto, se diseñó el segundo proyecto: “Metodologías para la monitorización de la aplicación de lodos de depuradora. Bioseguridad microbiana y modelos de flujo y transporte de contaminantes solubles” (MMA0022/PC08/3-04.2), financiado por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM), que fue llevado a cabo entre los años 2009 y 2011. En este proyecto se ampliaron los tipos de enmiendas estudiadas, ya que además de los dos tipos de lodo (aerobio y anaerobio) se aplicó el compost procedente de residuos sólidos urbanos en el estudio. La dosis empleada, basándose en los resultados obtenidos en el primer proyecto, fue de 160 Mg ha<sup>-1</sup>. En este caso se persiguió estudiar los procesos de mineralización de la materia orgánica aplicada con la enmienda, y la evolución a corto y medio plazo de la materia orgánica del suelo, a dosis constante, en aplicación única a altas dosis.

#### 3.1 Área experimental

Ambos proyectos se llevaron a cabo en las instalaciones experimentales de “La Isla”, pertenecientes al Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) (Figura 3.1). La finca experimental está situada en el municipio de

Arganda del Rey, al sureste de la Comunidad de Madrid, y ha sido históricamente explotada para su uso agrícola. Antes del desarrollo de los experimentos, la finca estuvo 10 años sin utilizarse.

**Figura 3.1 Situación y parcelas experimentales**



### 3.1.1 Geología

La zona se encuadra dentro de la cuenca del río Tajo, en su cubeta central, dentro de la depresión terciaria de Castilla la Nueva. Se encuentra en una zona dominada por características morfoestructurales y litológicas propias de las grandes cuencas de la zona central de la Península Ibérica. En el contexto geomorfológico, la morfología tubular se caracteriza por la presencia de páramos o mesetas sobre estratos horizontales (páramo de Rivas-Vaciamadrid, por ejemplo) con ríos encajados profundamente en valles, y una litología calcáreo-evaporítica. En este caso, la parcela de experimentación se sitúa sobre materiales cuaternarios de la cuenca del río Jarama, que posee un valle muy desarrollado, datándose hasta 6 niveles de terrazas. El cuaternario de la zona se caracteriza por presentar tres tipos de depósitos: depósitos autóctonos eluviales, producidos *in situ* por alteraciones químicas y mecánicas; depósitos paraautóctonos de tipo gravitatorio, aparecidos por hundimiento, disgregación y/o solifluxión, y procedentes de las partes altas de los páramos, que en nuestro caso son fundamentalmente materiales evaporíticos (yesos fibrosos blancos y yesos especulares de neoformación), originarios de la potente formación yesífera que ha generado los escarpes que limitan el valle al noroeste; y depósitos alóctonos de tipo hidrodinámico, depósitos aluviales que forman las terrazas y conos de deyección del valle y que proceden de la erosión de los páramos (materiales evaporíticos y calcáreos del mioceno), de las afloraciones terciarias (arcosas neogénicas), y de los materiales que componen el sistema central, de la cabecera del río Jarama (gneis y granitos) (IGME, 1990).

Geomorfológicamente, la parcela se encuentra en las llamadas terrazas de nivel bajo, denominadas así por su edad de formación (holoceno), litología y situación (bajo las terrazas de nivel medio, que presentan un menor contenido en materiales finos, fundamentalmente limos, y son formación más antigua). Este nivel se desarrolla extensamente a 3-5 m sobre la margen izquierda del río, y está compuesta de gravas con matriz arenosa recubiertas superficialmente de limos arcilloarenosos pardos. Además, se ha observado presencia de yesos infrayacentes, procedentes de la erosión de los escarpes generados por la potente formación evaporítica ya mencionada. Más concretamente la terraza sobre la que se extiende la zona experimental es de nivel 1 (T1), con un relieve

plano (pendientes nunca por encima del 1%), a 3 m sobre el nivel del río y a 350 m del cauce.

**Figura 3.2 Situación del área experimental**



Los materiales cuaternarios que componen la terraza presentan una alta permeabilidad debido a su porosidad y han dado lugar a los acuíferos más importantes de la zona. El nivel freático en el área de experimentación fluctúa entre 3 y 5 m (IGME, 1990).

#### **3.1.2 Edafología**

Los sedimentos de origen aluvial, ricos en carbonato cálcico, han dado lugar a un antiguo Fluvisol calcárico que en la actualidad presenta características propias de Antrosol (FAO, 2006), caracterizado por tener una marcada influencia humana debido a su uso agrícola. Además, la presencia de los yesos de neoformación ha dado lugar a una ligera salinidad. Morfológicamente se diferencian tres horizontes, un horizonte antropopedogenético Ap (0-40 cm) con propiedades análogas a un horizonte Anthragric, con un contenido en carbono orgánico próximo a 1 %, un pH moderadamente básico ( $\text{pH} = 8$ ), baja pedregosidad superficial y alta permeabilidad. Los datos específicos de este horizonte se recogen en la Tabla 1. Además, se puede identificar un horizonte subsuperficial AC (40-80

cm) con características de suela de labor o compactación subsuperficial, provocada por el uso de maquinaria agrícola de manera intensiva, aunque también se aprecian morfológicamente cambios texturales de acumulación de arcillas. Este horizonte, con características propias de una suela de labor, se puede denominar Anthraquic, ya que presenta un aumento significativo de los valores de densidad aparente, lo que se traduce en una disminución de la permeabilidad eficaz y un menor contenido en carbono. Por último, existen diversos horizontes C, de 80-240 cm, que se diferencian por cambios texturales en los materiales, provenientes del transporte fluvial (Casermeiro et al., 2007).

**Tabla 3.1 Características específicas del horizonte Ap, separadas por las dos profundidades a las que se han tomado las muestras.**

Variable	Unidades	0-20 cm.	20-40 cm.
Arena Fina	%	7,78	1,53
Limo	%	41,28	41,17
Arena	%	23,61	29,13
Arcilla	%	27,34	28,17
Clase Textural	-	Coarse clay	Coarse clay
Porosidad	%	40,69	-
Carbono	g/kg	13,08	12,48
Orgánico			
Carbonato	%	8,80	8,90
CIC	cmol <sub>+</sub> /kg	15,32	13,61
Na	cmol <sub>+</sub> /kg	0,54	0,56
K	cmol <sub>+</sub> /kg	1,47	1,53
Ca	cmol <sub>+</sub> /kg	12,36	10,66
Mg	cmol <sub>+</sub> /kg	1,03	0,86
pH	cmol <sub>+</sub> /kg	8,30	8,15
EC <sub>1:5</sub>	dS/m	0,19	0,27



#### **3.1.3 Climatología**

Los datos climáticos (precipitación y temperatura) se han obtenido de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET), más concretamente de la estación de Arganda del Rey (código 3195), localizada en las propias instalaciones experimentales donde se llevó a cabo el estudio (Latitud: 40°18'43", Longitud: 3°29'53", Altitud: 618 msnm). Para la correcta caracterización climática y para contextualizar climáticamente los años de medición, se han complementado los datos de la estación de Arganda con la serie temporal de la estación de Barajas, cercana y con una serie temporal de las más amplias en la región (1920-2010).

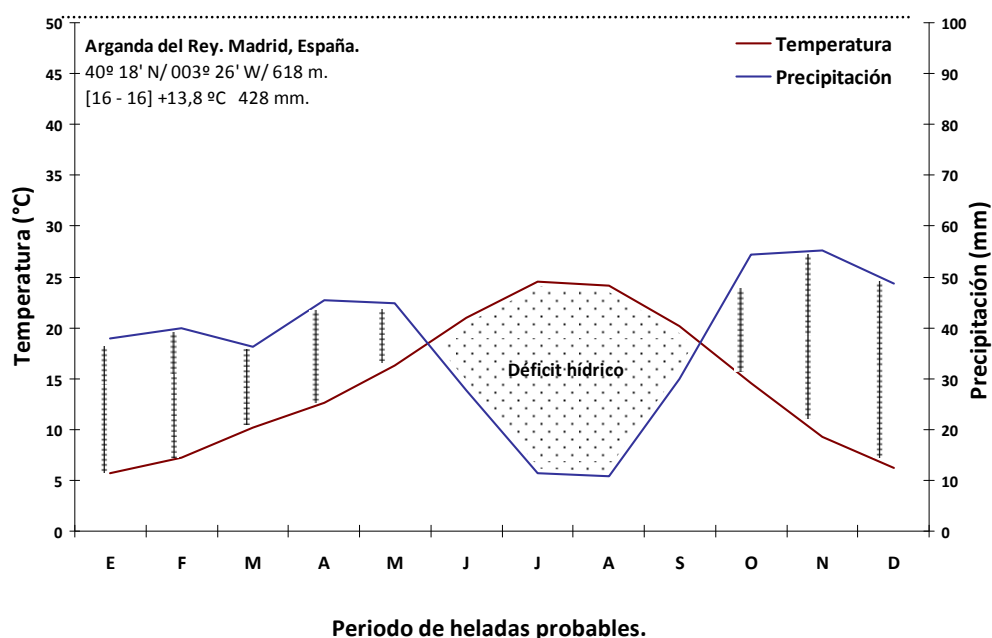
La precipitación media es de 437,3 mm, con máximas de 746 mm (año 1963) y mínimas de 247 mm (año 1954). La precipitación media es baja (400 mm), lo que identifica el clima mediterráneo continental de la zona como seco, propio de la meseta sur y la cuenca del Tajo. La distribución mensual de las precipitaciones indica que son los meses de otoño (de octubre a diciembre) los más lluviosos, con medias alrededor de 50 mm/mes, mientras que en verano (julio y agosto) se produce una marcada estación seca, con medias en torno a los 11 mm/mes. El ritmo ómbrico es, por tanto, típico de un clima mediterráneo (Otoño > Primavera > Invierno > Verano).

La temperatura media es de 14,3°C, al igual que la precipitación, se sitúa muy próxima al límite inferior para el clima mediterráneo continental propio de la zona. Las medias mensuales indican que el mes más frío es enero (media de 5,7°C), mientras que julio es el más cálido (media de 24,5°C). Se han registrado mínimas absolutas de -6,7°C. Se producen heladas probables (media de las temperaturas mínimas mensuales por debajo de 2°C) en los meses de diciembre a febrero, no existiendo meses con heladas seguras (media de las temperaturas mínimas por debajo de 0°C). Las temperaturas medias mensuales nos permiten calcular el Periodo de Actividad Vegetal (PAV), definido como el periodo del año en el que las comunidades vegetales pueden producir biomasa. Las medias mensuales se sitúan por encima de 7,8°C (temperatura mínima marcada por Papadakis, 1980, por encima de la cual empieza el PAV) en los meses de marzo a noviembre. Los datos históricos reflejan la existencia de un periodo de estrés hídrico (ETP > P) que abarca los meses de mayo a septiembre, especialmente intenso en julio y agosto.

A partir de los datos, el macrobioclima de la zona se puede clasificar como mediterráneo (según su índice de mediterraneidad  $I_m > 2,5$ ). Además, se puede acotar siguiendo el índice de termicidad compensado, que refleja que estamos bajo un clima mesomediterráneo. Por su parte, el índice de continentalidad (Supan, 1884) permite clasificar el clima como oceánico semicontinental atenuado, mientras que los valores de precipitación indican que es un clima semiárido. El edafoclima, según Lázaro et al. (1978) se puede estimar en relación con los datos atmosféricos. Así, la temperatura del suelo a 50 cm será un grado superior a la media atmosférica, es decir  $15,3^{\circ}\text{C}$ , lo que sitúa el edafoclima entre méxico y térmico. Además, el régimen de humedad clasifica el suelo como xérico, propio de condiciones mediterráneas. Se caracteriza por un déficit de agua en verano, la sección de control de humedad en años normales está seca en todas partes por 45 días o más, consecutivos en los 4 meses siguientes al solsticio de invierno; y un superávit húmedo entre otoño e invierno, la sección de control de humedad está húmeda en alguna parte por más de 90 días o más consecutivos. La temperatura media anual del suelo es menor de  $22^{\circ}\text{C}$ , y las temperaturas medias del suelo del verano y del invierno difieren en  $6^{\circ}\text{C}$  o más.

En resumen, la zona se enmarca en el bioclima mediterráneo pluviestacional oceánico, en el piso mesomediterráneo semiárido. Las temperaturas se ven condicionadas por la continentalidad ( $I_c=18,4$ ), dando lugar a inviernos fríos y secos y veranos muy calurosos. Existe una marcada estación seca, entre junio y septiembre, con condiciones de estrés hídrico (Figura 3.3). Las lluvias se producen en otoño, momento en que la evapotranspiración es baja, por lo que el agua permanecerá en el suelo a lo largo del invierno. Suele haber otro máximo relativo de lluvias en primavera, pero la reserva de agua se agota pronto debido a los altos valores de evapotranspiración (Figura 3.3). Durante el verano, las lluvias son poco frecuentes pero de alta intensidad y son muy poco eficientes por la elevada evapotranspiración. La existencia de un clima mediterráneo confiere un especial interés al estudio, ya que bajo estas condiciones los ciclos biológicos poseen características singulares. El clima mediterráneo impone una doble adversidad a los sistemas biológicos: la limitación hídrica y la irregularidad (impredecibilidad) de las precipitaciones. Además, esta adversidad se verá incrementada por el cambio climático (Valladares et al., 2004).

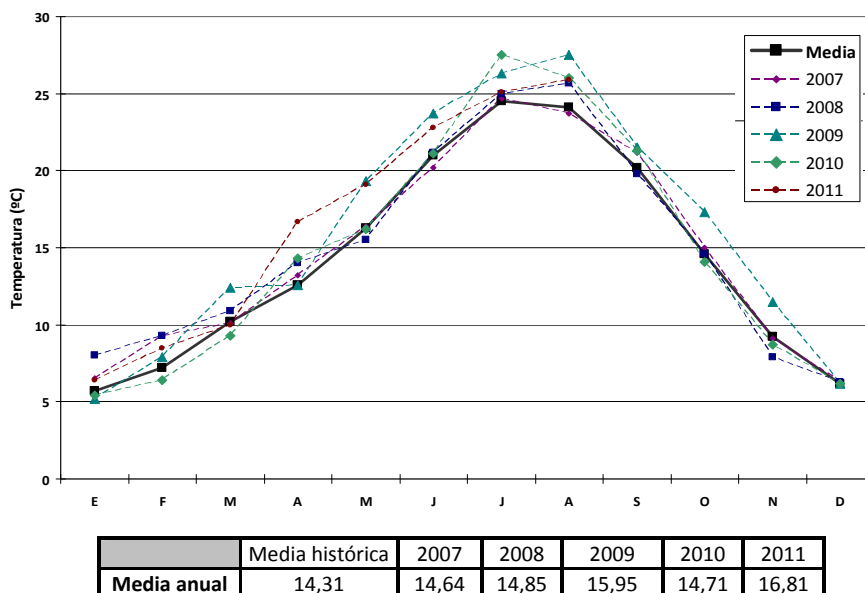
**Figura 3.3 Diagrama climático de la estación meteorológica de Arganda del Rey (Fuente.- AEMET)**



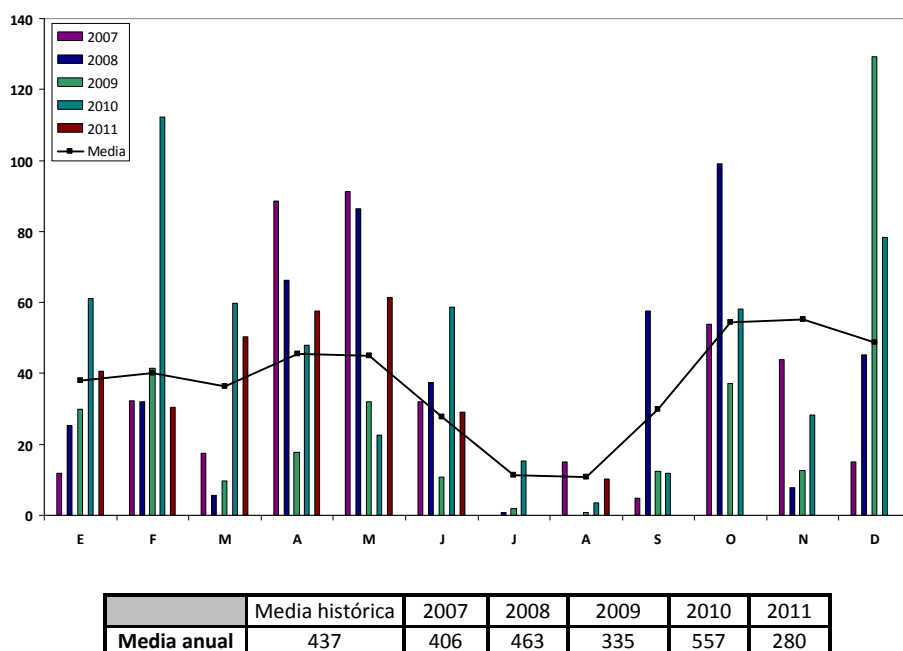
Los datos climáticos durante el periodo de experimentación (2007-2011) muestran una época especialmente calurosa, con medias anuales superiores a la histórica (entre 14.31 y 16.81) y con diferencias máximas de 4°C respecto de la media histórica en verano (Figura 3.4 y Tabla 3.2). En cuanto a las precipitaciones, los datos muestran la extremada variabilidad interanual de los episodios lluviosos, exceptuando los meses estivales, donde la práctica ausencia de precipitaciones es común. La precipitación media es muy similar a la media de la serie temporal, pero con una alta irregularidad en la precipitación (Figura 3.5 y Tabla 3.3) y una precipitación muy baja, próxima a la mínima histórica en 2011.



**Figura 3.4 y Tabla 3.2 Comparación de las temperaturas medias de la estación de Arganda del Rey con las medias de los años de medida (Fuente.- AEMET)**



**Figura 3.5 y Tabla 3.3 Comparación de las precipitaciones medias de la estación de Arganda del Rey con las medias de los años de medida (Fuente.- AEMET)**



### 3.2 Residuos orgánicos

Las enmiendas utilizadas para el estudio proceden del tratamiento de los dos principales residuos orgánicos que producen los entornos urbanos: lodos de las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) y compost procedente de residuos urbanos. Se han seleccionado los dos tipos de lodo producidos más frecuentemente en las EDAR: Lodo aerobio (AE), que tras su generación únicamente ha sufrido un proceso de secado al aire; lodo anaerobio (AN), resultante de una digestión anaerobia posterior a su generación, y biosólidos (BS), producto final del compostaje de los residuos orgánicos urbanos. Los procesos de obtención y tratamiento de estos residuos se han detallado en el capítulo introductorio. Se ha tratado de que los residuos aplicados sean representativos de los generados en la ciudad de Madrid, escogiendo aquellos que se destinan a enmiendas agrícolas.

#### 3.2.1 Proyecto CICYT (CGL2006-13915/CLI)

En el primer proyecto únicamente se utilizaron lodos de depuradora. Se escogieron lodos procedentes de dos depuradoras del Canal de Isabel II de la Comunidad de Madrid: Campo Real (obtenido con tratamiento aerobio) y Guadarrama (obtenido con tratamiento anaerobio). Los principales datos de los lodos aplicados se presentan en la Tabla 3.4 (los datos del contenido en metales pesados son los aportados por el gestor).

Ambos lodos presentan unos valores de contenido en metales pesados por debajo del umbral establecido por la legislación (Directiva 86/278/CEE, Real Decreto 1310/1990 (Nacional) y Decreto 193/1998, de 20 de noviembre (Comunidad de Madrid) para su utilización en agricultura. Los valores estimados coinciden con los encontrados en el estudio “*Caracterización de los lodos de depuradora generados en España*” (MARM, 2009). Los valores del contenido en metales están en los umbrales medios estimados en el estudio y, en algunos casos (Cr y Hg), poseen valores cercanos a los mínimos. En cuanto a los parámetros agronómicos, los valores también se sitúan en los intervalos medios establecidos por el estudio, a excepción de la relación C/N, que es muy baja, sobre todo en el caso del lodo anaerobio, debido a que el valor de N está por encima de la media establecida en el estudio.

### **3.2.2 Proyecto MARM (MMA0022/PC08/3-04.2)**

En el segundo proyecto se seleccionaron tres tipos de material de distinta procedencia: Biosólido, procedente de los procesos de compostaje del vertedero de la ciudad de Madrid (Valdemingomez), lodo anaerobio de la planta depuradora urbana de Toledo y lodo aerobio de la planta depuradora de San Fernando de Henares. Los principales datos de las enmiendas aplicadas se presentan en la Tabla 3.4.

Las tres enmiendas poseen también unos valores de contenido en metales pesados por debajo del umbral establecido por la legislación para su utilización en agricultura. Los valores estimados se han comparado con los encontrados en el estudio “*Caracterización de los lodos de depuradora generados en España*” (MARM, 2009). Los valores de los parámetros agronómicos se sitúan en los intervalos medios establecidos por el estudio, a excepción de la relación C/N en el lodo anaerobio, donde es muy baja. Respecto al contenido en metales, los valores están entre los umbrales medios estimados en el estudio. El lodo anaerobio posee valores altos de Hg, Pb y Zn en relación con las medias obtenidas en el estudio.

Tabla 3.4 Características de las enmiendas orgánicas aplicadas

Tipo de Residuo	Lodo Anaerobio	Lodo Aerobio	Lodo Anaerobio	Lodo Aerobio	Compost RSU
Localidad	Guadarrama	Campo Real	Toledo	S. Fernando de Henares	Valdemingómez
Peso seco (PS) (%)	16,50	14,20	22,00	23,29	33,90
Mat. Org. (%)	76,30	74,50	52,00	73,29	52,22
C (g/kg)	443,60	433,14	249,90	344,90	286,50
LP1 (%C)	-	-	3,84	6,90	4,52
LP2 (%C)	-	-	3,61	9,54	4,35
R (%C)	-	-	6,31	8,57	7,04
N (g/kg)	63,00	42,00	46,00	28,40	19,10
C/N	7,04	10,31	5,43	12,14	15,00
P (g/kg)	12,00	17,00	35,00	25,10	37,00
pH	7,50	8,20	7,70	6,41	6,50
Ca (g/kg)	17,00	35,00	50,00	36,60	41,00
K (g/kg)	2,60	5,40	4,40	3,60	4,70
Mg (g/kg)	2,50	3,00	4,80	5,00	5,10
Fe Tot. (g/kg)	6,50	4,40	6,17	12,87	5,10
Cd (mg/kg)	1,10	0,78	< 2,00	1,73	0,89
Cr (mg/kg)	16,00	17,00	71,00	71,35	108,00
Cu (mg/kg)	354,00	91,00	232,00	285,39	231,00
Hg (mg/kg)	0,59	0,12	5,00	0,37	1,43
Ni (mg/kg)	16,00	21,00	35,00	27,04	7,53
Pb (mg/kg)	29,00	28,00	265,00	130,62	132,00
Zn (mg/kg)	523,00	237,00	1296,00	471,76	433,00

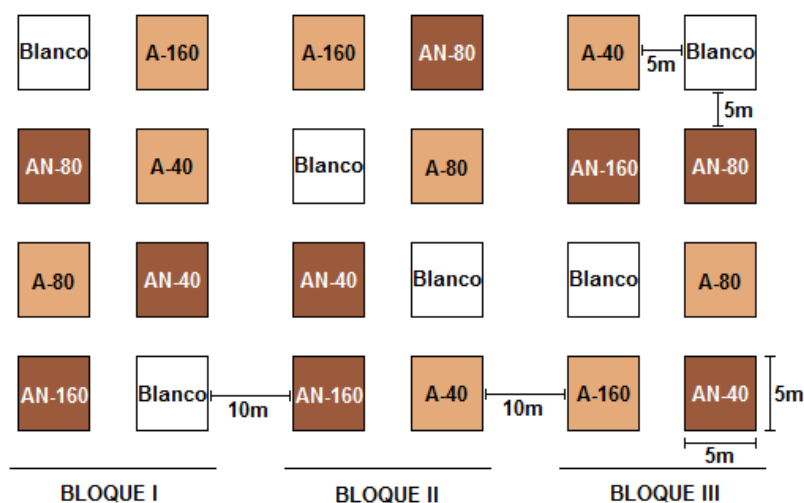
Todos los datos contenidos en la tabla se refieren al contenido en peso seco del residuo.

### 3.3 Diseño experimental

#### 3.3.1 Proyecto CICYT (CGL2006-13915/CLI)

Se diseñaron tres bloques de ocho parcelas cada uno, con una distribución aleatoria de las parcelas dentro de cada bloque: 3 parcelas con adición de lodo aerobio y 3 parcelas con aplicación de lodo anaerobio, ambos tratamientos a dosis crecientes, y 2 blancos (sin aplicación de lodo, que servirán de referencia), obteniéndose tres replicas ( $n=3$ ) para cada dosis y tipo de lodo. Cada parcela tiene unas medidas de  $5 \times 2,5$  m, con la suficiente separación entre parcelas y bloques (10 m) para evitar posibles interferencias entre ellas. Las concentraciones establecidas fueron: 40, 80 y 160  $\text{Mg ha}^{-1}$  (PS) (Figura 3.6).

**Figura 3.6 Distribución de los bloques y las parcelas del primer proyecto (CICYT)**



La aplicación de la enmienda se realizó con una pala mecánica de  $1 \text{ m}^3$ , de la manera más homogénea posible. Tras la aplicación de los lodos se realizó la mezcla con el horizonte superficial mediante el uso de un rotocultor, hasta una profundidad de 20 cm. A lo largo del estudio no se practicaron labores de mantenimiento, riego o recortes de vegetación sobre las parcelas analizadas.

**Figura 3.7 Montaje de las parcelas.**



**Recepción del residuo**



**Extendido con pala mecánica**



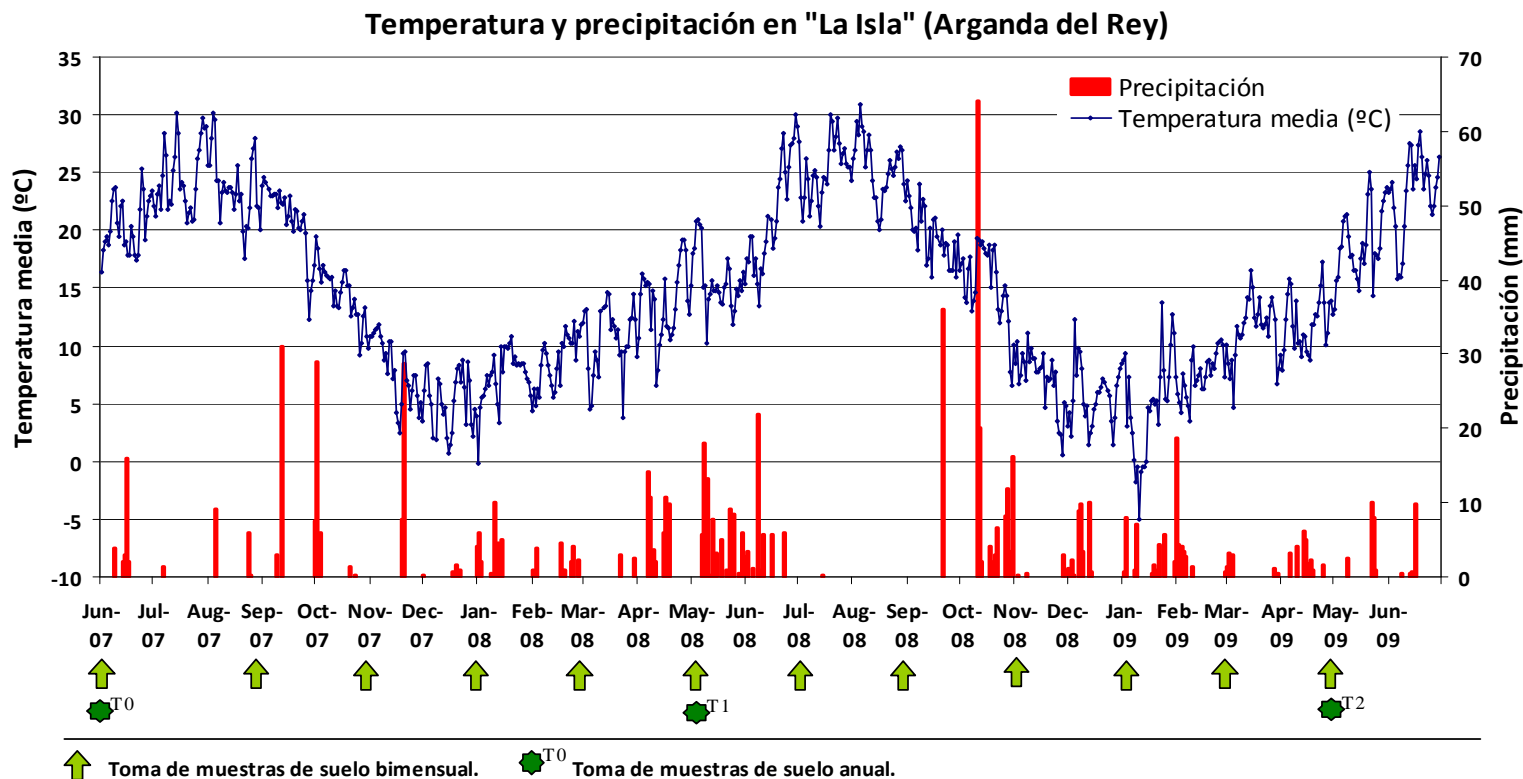
**Mezclado con el suelo con rotocultor**



**Estado final de las parcelas**

Se realizaron muestreos bimensuales para medir la evolución del Carbono Orgánico Total y de la emisión de  $\text{CO}_2$  (tasa de mineralización). Además, se realizaron muestreos anuales, a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm), a los 20 días de la aplicación ( $T_0$ ) transcurrido un año ( $T_1$ ) y transcurridos dos años ( $T_2$ ), donde se analizaron: pH, Conductividad Eléctrica, contenido en Carbonato Cálcico, Bicarbonatos Solubles, Carbono Soluble y las fracciones del Carbono Orgánico (Fracciones Hidrolizables y Carbono Recalcitrante) (Figura 3.8).

Figura 3.8 Fechas de los muestreos y situación climatológica durante el proyecto CICYT. (Datos climatológicos de la finca "La Isla" en los años 2007 a 2009).



3.3.2 Proyecto MARM (MMA0022/PC08/3-04.2)

Para el desarrollo de este proyecto se diseñaron tres bloques de cuatro parcelas: Lodo Aerobio, Lodo Anaerobio, Biosólido y Blanco (Figura 3.9). Para el diseño de este experimento se tuvieron en cuenta los resultados del proyecto anterior, eligiendo una dosis única de  $160 \text{ Mg ha}^{-1}$  en cada una de las parcelas, siguiendo el mismo procedimiento descrito para el proyecto anterior, obteniendo tres réplicas para cada uno de los tratamientos. En este caso los muestreos de respiración del suelo (emisión de  $\text{CO}_2$ ) se realizaron durante un año, de manera quincenal y tres veces al día, para estudiar en profundidad las emisiones. Además, de manera trimestral y a lo largo de dos años, se realizaron muestreos a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm) con el fin de analizar: el Carbono Orgánico Total, el Carbono y los Bicarbonatos Solubles, las fracciones ya mencionadas del Carbono Orgánico, el pH y la Conductividad Eléctrica. Por último, y de manera anual, se analizó el contenido en Carbonato Cálculo (Figura 3.10).

Figura 3.9 Distribución de los bloques y las parcelas del segundo proyecto (MARM)

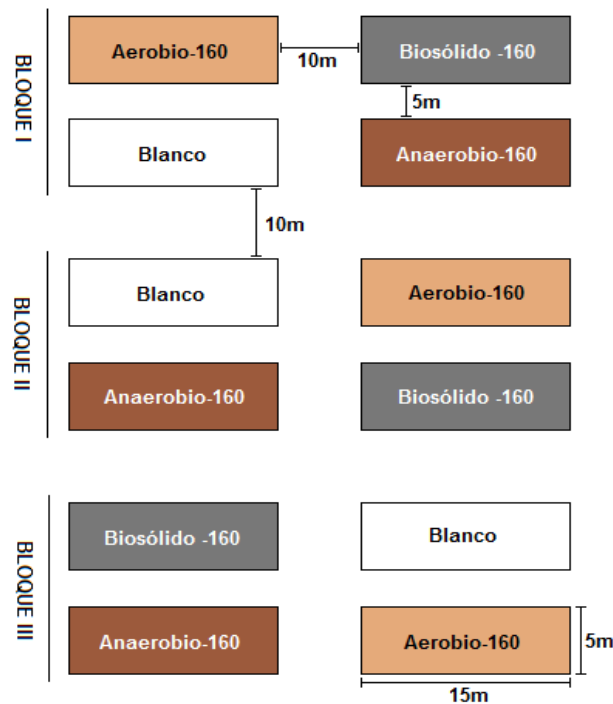
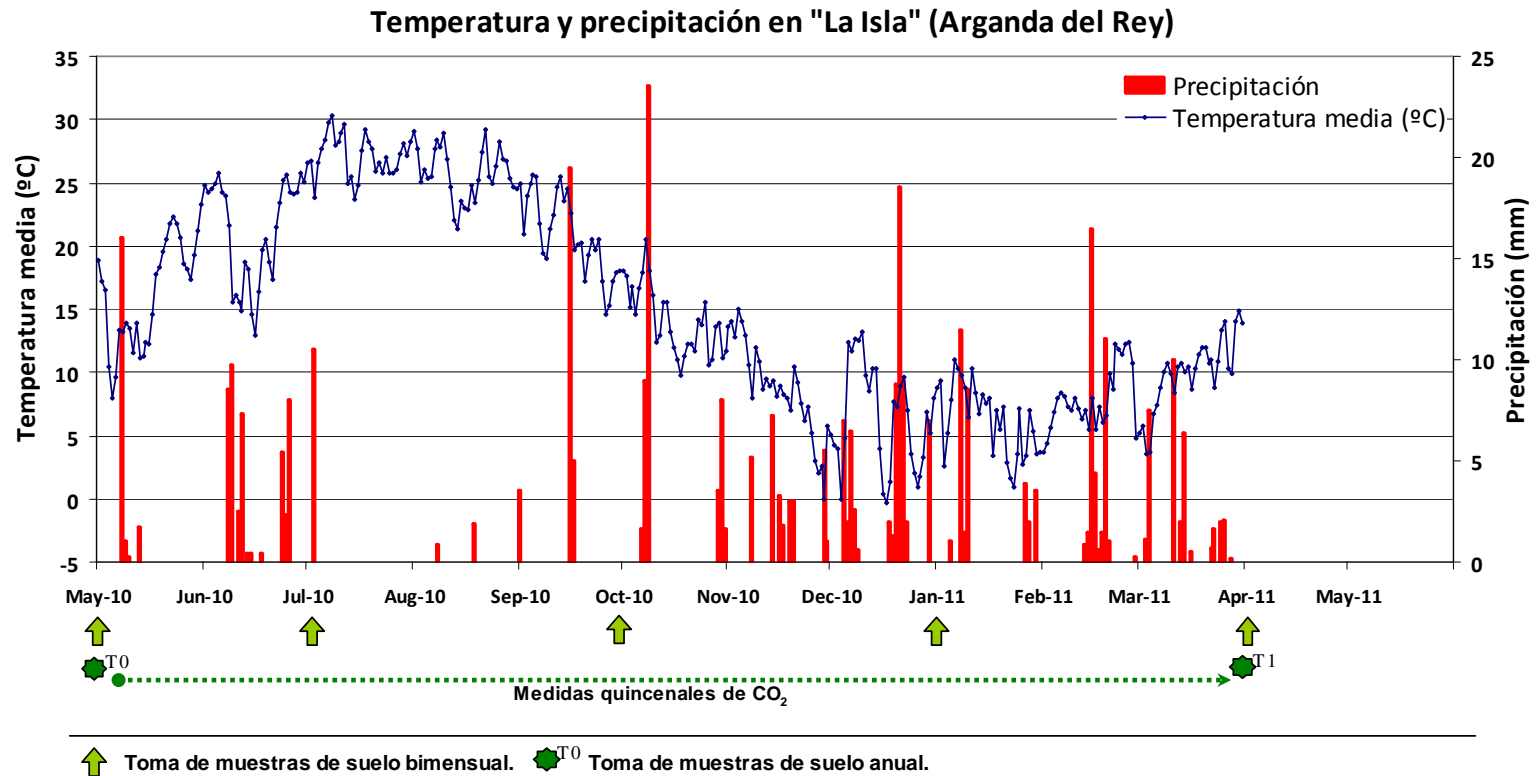




Figura 3.10 Fechas de los muestreos y situación climatológica durante el proyecto MARMT. (Datos climatológicos de la finca "La Isla" en los años 2010 a 2011).



### 3.4 Análisis de muestras

La toma y la preparación de los suelos se llevó a cabo siguiendo las especificaciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) (Schoeneberger et al., 2002). Los análisis, por su parte, se han realizado siguiendo los protocolos establecidos por el International Soil Reference and Information Center (ISRIC, 2002). Las determinaciones realizadas fueron:

- La **Conductividad eléctrica (CE)** se determinó en una suspensión suelo/agua 1/5, realizando la medida en un conductivímetro modelo Crison micro CM 2200.
- El **pH** se determinó en una suspensión suelo/agua 1 /2,5, en un pH metro Crison GLP 21.
- El **Carbonato Cálcico Equivalente** y el **Carbonato Ácido Soluble** (bicarbonato) se midieron según el método de neutralización ácida, propuesto por Allison y Moodie (1965), con HCl titulado.
- El **Carbono Soluble** se extrajo en una disolución 1/5 de relación suelo/agua (p/v) tras una hora de agitación y fue analizado en un autoanalizador micro NC de analyticJena.
- El **Carbono Orgánico Total** se determinó siguiendo la metodología propuesta por Walkley-Black, mediante oxidación en húmedo con Dicromato Potásico ( $K_2Cr_2O_7$ ) y posterior valoración con un agente reductor (Sal de Mohr,  $[(SO_4)_2Fe(NH_4)_2 \cdot 6H_2O]$ ).
- Para el estudio de las **fracciones del carbono orgánico**, se procedió a separar y cuantificar el carbono asociado a fracciones más lábiles (materia orgánica hidrolizable,  $LP_1$  y  $LP_2$ ), de las formas de carbono más estables (materia orgánica recalcitrante, R), mediante hidrólisis ácida, utilizando la metodología propuesta por Rovira & Vallejo (2007).
  - La **fracción lábil  $LP_1$**  corresponde fundamentalmente a azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de bajo peso molecular.
  - La **fracción lábil  $LP_2$**  contiene compuestos con mayor grado de polimerización.

- La **fracción recalcitrante (R)** contiene compuestos de elevado peso molecular.

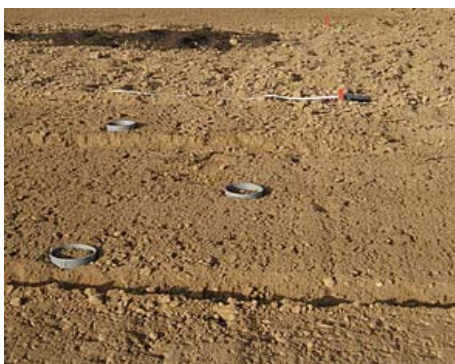
Estos autores proponen además el índice de recalcitrancia ( $RI_c$ ) como mecanismo para caracterizar la materia orgánica del suelo:

$$RI_c = (R_c / TOC) \times 100$$

Donde  $R_c$  es la fracción recalcitrante del carbono contenido en la materia orgánica del suelo y TOC es el carbono total del suelo.

- Las tasas de **emisión de  $CO_2$**  se midieron según la metodología estandarizada para este tipo de análisis (Davidson et al., 2002). La toma de datos se realizó *in situ* mediante un detector de infrarrojos acoplado a una campana (analizador modelo Li-COR 8100). Se instalaron tres cilindros de PVC en cada parcela de manera aleatoria, que no se extrajeron hasta el final del experimento. La campana se sitúa sobre el cilindro de PVC, previamente clavado en el suelo, y captura el aire que éste emite. El suelo ha de estar desnudo, por lo que previamente a las medidas se recortaba toda la vegetación. El aire capturado se hace pasar por el detector de infrarrojos, que estima el flujo de  $CO_2$ . La campana utilizada fue la estándar de 20cm de diámetro (Figura 3.11).

**Figura 3.11 Montaje de cilindros y detector Li-COR 8100**



**Colocación de los cilindros de PVC en las parcelas**



**Medidor Li-COR 8100**

### 3.5 Análisis de datos

En función del objetivo específico que se pretendía alcanzar el tratamiento de los datos fue diferente:

- Para analizar la evolución del carbono orgánico aportado por las enmiendas se llevó a cabo un análisis de la varianza de un factor (ANOVA), utilizando el método de distribución F, Fisher-Snedecor, con un nivel de confianza mayor del 95% ( $p < 0,05$ ), empleando el programa estadístico SPSS v.17 para el sistema operativo Microsoft Windows. Con este análisis se han analizado las diferencias entre los tratamientos, así como la evolución estacional de las formas de carbono. Mediante el mismo programa estadístico, se han realizado estudios de correlación bilateral (método de Pearson), con el fin de estudiar las relaciones entre las diversas variables medidas en cada uno de los proyectos. Además, se han realizado análisis de regresión múltiple con el fin de estudiar las relaciones de variables analizadas con las tasas de emisión de CO<sub>2</sub>.
- Para analizar la evolución de la respiración del suelo se aplicaron modelos empíricos para representar las relaciones entre los factores climáticos y la respiración. Siguiendo el trabajo de Lellei-Kovács et al. (2011) probamos tres modelos comúnmente aplicados para representar las relaciones entre respiración del suelo y los factores climáticos: el modelo de Lloyd y Taylor (1994) [1], que refleja relaciones no lineales, el modelo exponencial [2], que asume una relación lineal, y la aproximación de Gauss [3], que supone la existencia de un punto máximo de respiración. Estos modelos representan tres diferentes respuestas de la respiración frente a aumentos de temperatura, humedad o RWi.

$$[1] R_s = \exp [(b_1 - b_2) / (T_s - b_3)]$$

$$[2] R_s = \exp (b_1 + b_2 T_s)$$

$$[3] R_s = \exp (b_1 + b_2 T_s + b_3 T_s^2)$$

Además, a partir del modelo exponencial se calculó el coeficiente Q<sub>10</sub> (Jenkins y Adams, 2011) [4], que expresa la sensibilidad de la respiración frente a la

temperatura, reflejando la diferencia en la tasa de respiración producida por un aumento de 10 ° C (Chang et al., 2012).

$$[4] R_s = a e^{bT_s} \rightarrow Q_{10} = e^{10b}$$

Donde a y b son parámetros del modelo exponencial,

Con el fin de incluir los pulsos de precipitación en el análisis de nuestros datos, se calculó el índice de rehumectación propuesto por Almagro et al. (2009) [5].

$$[5] RW_i = P/t$$

Donde RW<sub>i</sub> es el índice de rehumectación, P es la precipitación en mm y t es el tiempo transcurrido desde el evento de precipitación en días.

Por último, se probaron modelos que tuvieran en cuenta todas las variables, y no solo la influencia de un factor de manera individual. En este caso se probaron cinco modelos, procedentes de los últimos trabajos sobre respiración del suelo aparecidos en la literatura científica. Además, con el fin de incluir proceso de rehumectación, se desarrolló una modificación del modelo de Martin y Bolstad, introduciendo el índice de rehumectación en la ecuación.

$$R_s = b_1 \exp(b_2 T_s) \quad \text{Msb3 (Jun et al., 2008 y Zhang et al., 2010)}$$

$$R_s = (b_1 M_s + b_2) \exp(b_3 M_s / (b_4 + M_s) b_5 +) T_s \quad \text{(Smith, 2005)}$$

$$R_s = b_1 - \exp(b_2 T_s) \exp[0,5 (\ln(M/b_3) / b_4)^2] \quad \text{(Byrne et al., 2005)}$$

$$\ln(R) = b_1 + b_2 T_s + b_3 T_s^2 + b_4 M_s + b_5 M_s^2 + b_6 T_s M_s \quad \text{(Martin y Bolstad, 2009)}$$

$$\ln(R) = b_1 + b_2 T_s + b_3 T_s^2 + b_4 M_s + b_5 M_s^2 + b_6 T_s M_s + b_7 RW_i$$

- Para estudiar la evolución de la respiración del suelo bajo los diferentes tratamientos se llevó a cabo un análisis de la varianza con medidas repetidas (Split plot model), utilizando el programa estadístico SPSS v.17 para el sistema

operativo Microsoft Windows. Esta aproximación nos permitió ver qué relevancia tuvo el tipo de enmienda en la respiración, y si esa relevancia varió a lo largo del año de estudio. Para completar el tratamiento de los datos también se llevaron a cabo regresiones múltiples que incluyeron las variables climáticas en el análisis.

# RESULTADOS





## 4 Resultados

Los resultados obtenidos han originado la publicación de los siguientes artículos científicos:

4.1. Aplicación de lodos de depuradora a suelos agrícolas calcáreos mediterráneos: efectos de la dosis de aplicación sobre el ciclo del carbono en el suelo.

González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., Cruz, M.T., Valverde, I. and Casermeiro, M.A.  
Publicado en International Journal of Environmental Research.

4.2. Evolución de la materia orgánica tras la aplicación de altas dosis de enmiendas orgánicas en suelos carbonatos mediterráneos.

González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., Cruz, M.T., Carrero, B. and Casermeiro, M.A.  
Publicado Journal of Soils and Sediments.

4.3. Evaluando la influencia del clima mediterráneo en la respiración del suelo agrícola a través de escalas temporales.

González-Ubierna, S., Cruz, M.T., and Casermeiro, M.A.  
Enviado a Soil Biology and Biochemisrty.

4.4. ¿Cómo influyen los residuos orgánicos biodegradables en las emisiones de CO<sub>2</sub> del suelo? Estudio en un agroecosistema mediterráneo.

González-Ubierna, S., Cruz, M.T., and Casermeiro, M.A.  
En revisión en Waste Management.



**Aplicación de lodos de depuradora a suelos agrícolas calcáreos mediterráneos: efectos de la dosis de aplicación sobre el ciclo del carbono en el suelo.**



**De este capítulo se ha derivado la publicación:**

*“Sewage sludge application on Mediterranean agricultural soil: dose effects upon soil carbon cycle”*

González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., Cruz, M.T., Valverde, I.,  
Casermeiro, M.A.

Publicado en International Journal of Environmental Research



#### **4.1 Aplicación de lodos de depuradora a suelos agrícolas calcáreos mediterráneos: efectos de la dosis de aplicación sobre el ciclo del carbono en el suelo**

##### **4.1.1 Resumen**

En este trabajo se investiga el efecto de la dosis de aplicación y el tipo de lodo sobre el ciclo del carbono del suelo en un ecosistema agrícola semiárido mediterráneo. Investigamos la evolución durante dos años de las diferentes formas de carbono orgánico e inorgánico del suelo, así como su influencia en la respiración del suelo.

Se aplicaron tres dosis (40, 80 y 160 Mg ha<sup>-1</sup>) de dos tipos de lodos procedentes de depuradoras urbanas, uno digerido aeróbicamente y el otro anaeróbicamente, sobre un suelo calcáreo mediterráneo. El área de estudio se localiza en el sureste de la Comunidad de Madrid (España), caracterizado por un clima mediterráneo con un marcado contraste climático, estacional y diario. Se analizaron el carbono orgánico del suelo, sus fracciones y la parte soluble, las emisiones de CO<sub>2</sub> y las formas inorgánicas de carbono. Las muestras se tomaron anualmente durante los dos años, excepto para el carbono orgánico y las emisiones de CO<sub>2</sub>, que se midieron bimensualmente.

Los resultados mostraron que el tipo de lodo y la dosis de aplicación influyen en notablemente en los efectos producidos sobre el ciclo de carbono en el suelo. El lodo aeróbico tiene un efecto mayor a corto plazo. Los suelos enmendados con lodos anaerobios parecen afectar en menor medida tras la aplicación de la enmienda, pero su efecto es más prolongado en el tiempo, ya que las diferencias con el suelo no tratado se conservan incluso después de dos años. La aplicación de enmiendas orgánicas en los suelos calcáreos mediterráneos también modifica los reservorios de carbono inorgánico, aumentando considerablemente los bicarbonatos solubles del suelo. Todos estos resultados se reflejan en las tasas de emisiones de CO<sub>2</sub> del suelo, con los valores más altos observados en suelos enmendados con lodos aerobios.

De acuerdo con nuestros datos, se propone una revisión de las recomendaciones de la Unión Europea respecto a la utilización de lodos de depuradora en agricultura. Proponemos la inclusión de recomendaciones respecto al tipo de estabilización del lodo y la dosis de aplicación en relación a los efectos producidos sobre los ciclos biogeoquímicos del suelo.

## **Sewage sludge application on Mediterranean agricultural soil: dose effects upon soil carbon cycle.**

### ***Abstract***

This work investigates the effect of the application rate and type of sludge throughout the soil carbon cycle in a semiarid Mediterranean agro-ecosystem. We study the two-year evolution of the various pools of soil organic and inorganic carbon and their influence on soil respiration.

We applied three rates (40, 80 and 160 Mg ha<sup>-1</sup>) of two types of sludge – aerobically and anaerobically digested sewage sludge– in a calcareous Mediterranean soil. The study area is located in the southeast of Madrid (Spain) and is characterised by a Mediterranean climate with a marked seasonal and daily contrast. We analysed soil organic carbon, CO<sub>2</sub> emissions, organic carbon fractions, soluble carbon, and inorganic carbon forms. Measurements were made at three times over two years, and bimonthly for organic carbon and CO<sub>2</sub>.

The results show that sludge type and rate of application exert a significant influence throughout the soil carbon cycle. Aerobic sludge has a greater effect over the short-term. Anaerobic sludge treatment appears to have less effect on the cycle at the beginning of the amendment, but is prolonged over time, as the differences with untreated soil persist even after two years. The application of organic amendments in calcareous Mediterranean soils also modifies the inorganic carbon pools and greatly increases the soil soluble hydrogen carbonates. All of these results are reflected in the rates of soil CO<sub>2</sub> emissions, with the highest values recorded in soils amended with aerobic sludge.

Our data points to the advisability of a review of the European Union's recommendations regarding sludge and agriculture. We propose including a sludge stabilization process and recommended application rates according to the effects on soil biogeochemical cycles.

#### **4.1.2 Introduction**

The management of organic waste produced in urban areas is a priority issue in the environmental policy of the European Union (EU), according to Directive 2008/98/EC (CEC, 2008). The EU generates approximately 14 million tons of organic waste per year (d.w.), which requires the development and improvement of environmentally friendly mechanisms for its management (Sheppard et al., 2005). The European Commission considers that the application of organic waste (sewage sludge and biodegradable organic waste) in agriculture to be the least expensive solution (Hogg et al., 2002b), and this is the main output at the community level (Albiach et al., 2001). However, the use of these amendments also has negative impacts. In view of this fact, the effects of the heavy metal content of these residues have been extensively studied (Cai et al., 2007b; Haynes et al., 2009). The presence of organic contaminants has also been studied (Stevens et al., 2003, Sánchez-Brunete et al., 2007), and more recent works have focused on soil biogeochemical cycles (i.e. Hemmat et al., 2010 and González-Ubierna et al., 2012 on calcareous soils).

In current European legislation (Directives 86/278/EEC (CEC, 1986) and 91/692/EEC (CEC, 1991)), the maximum regulatory criteria for sludge application in soils is based solely on its heavy metal content. One of the latest EC Working Documents on Sludge (CEC 2000), involving a revision of Directive 86/278/EEC (CEC, 1986), proposes limit values for a range of classes of organic contaminants in sludge. Unfortunately, the implications of sludge in biogeochemical cycles have not yet been addressed in EU policies. Thus, there may be cases where the maximum rate for carbon forms produces a negative effect on groundwater or the atmosphere, while other rates may fail to enhance soil fertility. Some EU countries (Denmark, Netherlands and Sweden) have developed regulations that take into account the amount of nutrients in sludge in order to establish the maximum rate (Aubain, 2002). Furthermore, European regulations have neglected to include sludge stabilisation processes when establishing recommendations for its disposal in soils.

The importance of soil carbon on the global carbon cycle has already been noted (Giardina and Ryan, 2000; Lal, 2004; Almagro et al., 2009). According to Lal (2004), the adoption of recommended management practices on agricultural soils can reduce the

rate of enrichment of atmospheric CO<sub>2</sub>. Some authors have indicated that in Mediterranean soils, concentrations of organic matter tend to increase after the application of urban sludge, particularly in the humic fractions, which are the most persistent and difficult to degrade (Albiach et al., 2001; Zinati et al., 2001; Heras et al., 2005). However, several authors (Quemada and Menacho, 2001; Torri et al., 2003) suggest that most of the organic carbon is released in the form of CO<sub>2</sub> to the environment (mineralisation processes). Although the effects of different organic amendments (composted sewage sludge, thermally dried sludge and slurries) on soil properties and carbon mineralisation have been the object of numerous studies (Albiach et al., 2001; Haynes et al., 2009; Franco-Otero et al., 2011); there is still little knowledge of the main drivers and controls for SOM-mineralisation (Bradford et al., 2008). The relations among the different pools of soil carbon and CO<sub>2</sub> fluxes and the relevance of application rates and sludge type in these processes have been less widely studied, especially in Mediterranean environments.

The main aim of this work is to investigate the effect of the application rate of two types of sewage sludge (aerobically- and anaerobically-digested) throughout the evolution of soil carbon forms and soil properties in a semiarid Mediterranean agro-ecosystem. We study the soil carbon evolution through analyses of soil organic carbon, CO<sub>2</sub> emissions, organic carbon fractions (soluble, labile and recalcitrant pools), and inorganic carbon.

### **4.1.3 Material and methods**

#### *4.1.3.1 Study area*

The study area is an experimental station located in the centre of the Iberian Peninsula, near the city of Arganda del Rey, in the southeast of the Madrid Region in Spain (UTM X: 457673.84, UTM Y: 4462824.553). Geomorphologically, the area lies on the former alluvial terrace on the left bank of the Jarama river basin, on quaternary calcareous sediments with high carbonate contents.

The soil was analysed from a range of profiles on the experimental plot to obtain its correct characterisation (Table 4.1.1). The land on which the plot is located consists of



quaternary sediments from the Jarama river, which are basically sands and silts. These sediments are of alluvial origin, giving rise to a Calcaric Fluvisol, which today has characteristics typical of an Anthrosol (FAO, 2006). This soil exhibits a marked human influence due to its use for agriculture.

**Table 4.1.1 Specific characteristics of the Ap horizon**

Variable	Unit	Value
Texture	Fine Sand (%)	7.78
	Silt (%)	41.28
	Sand (%)	23.61
	Clay (%)	27.34
	Class	Coarse clay
Porosity	%	40.69
TOC	g kg <sup>-1</sup>	13.08
Carbonates	%	8.8
CEC	cmol <sub>+</sub> kg <sup>-1</sup>	15.32
Na	cmol <sub>+</sub> kg <sup>-1</sup>	0.54
K	cmol <sub>+</sub> kg <sup>-1</sup>	1.47
Ca	cmol <sub>+</sub> kg <sup>-1</sup>	12.36
Mg	cmol <sub>+</sub> kg <sup>-1</sup>	1.03
pH	-	8.30
EC <sub>1:5</sub>	dS m <sup>-1</sup>	0.19

TOC: Total Organic Carbon. EC: Electrical Conductivity.

CEC: Cation Exchange Capacity

Morphologically, the following elements can be differentiated: an Ap horizon (0-40 cm) with properties similar to an Anthragric horizon with an organic carbon content close to 1%, a moderately basic pH (pH =8), low surface stoniness and high permeability; and a subsurface horizon (40-80 cm) with the characteristics of agricultural land, showing subsurface compaction due to the intensive use of farm machinery. Morphologically, textural changes can also be observed in this latter horizon due to the accumulation of clays. This horizon could be categorised as Anthraquic, as it presents a significant increase in apparent density, which translates into a decrease in the effective permeability and lower carbon content (see Table 4.1.1) (Casermeiro et al., 2007).

The site is typical of a Mediterranean pluviseasonal-oceanic bioclimate, and is located within a dry meso-Mediterranean belt ([www.globalbioclimatics.org](http://www.globalbioclimatics.org)). The climate

is characterised by distinct seasonal and daily contrasts. The average annual rainfall is 430 mm, with a marked minimum in summer (50 mm). The average annual temperature is 19°C, with maximums in summer that often exceed 35°C. These conditions confer singularity on the study, as the Mediterranean climate imposes a double hardship on biological systems: limited water in summer and unpredictable rainfall (Valladares, 2004).

#### 4.1.3.2 Organic amendments

We selected two types of sewage sludge representative of urban areas: aerobic and anaerobic digested sludge. The sludge comes from the Canal de Isabel II water treatment plants in the Madrid Region: the aerobically-treated sludge from the Campo Real plant; and the anaerobically-treated sludge from the Guadarrama plant. After its generation, the aerobic sludge (AE) underwent only an air-drying process; however, the anaerobic sludge (AN) was treated in digesters without the addition of oxygen for its chemical stabilisation. The main chemical properties of the amendments applied are shown in Table 4.1.2. In terms of metal content, the sludge complies with the national and European legislation for agricultural use (CEC, 1986; RD, 1990).

**Table 4.1.2 Specific characteristics of the organic amendments**

Variable	Anaerobic Sludge	Aerobic Sludge
Dry weight (%)	16.50	14.20
TOC (g kg <sup>-1</sup> )	443,60	433,14
N (g kg <sup>-1</sup> )	63.00	42.00
C/N ratio	7.04	10.31
P (g kg <sup>-1</sup> )	12.0	17.0
pH	7.50	8.20
EC <sub>1:5</sub> (dS m <sup>-1</sup> )	14.86	14.35
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> (%)	4.13	1.32
Ca (g kg <sup>-1</sup> )	17.00	35.00
K (g kg <sup>-1</sup> )	2.60	5.40
Mg (g kg <sup>-1</sup> )	2.50	3.00
Fe (g kg <sup>-1</sup> )	6.50	4.40

TOC: Total Organic Carbon. EC: Electrical Conductivity.

All data referred to dry weight (d.w.)

#### *4.1.3.3 Experimental plot design and sampling*

The property used as the site of the experimental plot had lain fallow for ten years, after which it was ploughed for the present experiment. Three randomised blocks of soil plots (10x15 m each) were designed. The plot treatments included an unamended control (CONT) and two types of organic amendments: AE and AN. The concentrations established were 40, 80 and 160 Mg ha<sup>-1</sup> (d.w.), with a random distribution of eight plots per block (three plots with AE application, three plots with AN application and two blanks without sludge application as a control). Three replicates were thus obtained for each rate and type of sludge. Each plot measured 2.5x5m<sup>2</sup>. The blocks were separated by a distance of 10m to avoid any possible influence or contamination between one block and another.

The amendments were applied and mixed with the topsoil using a rototiller to a depth of 20cm. No maintenance work, watering or cutting of the vegetation was performed on the plots after the organic application. Before the CO<sub>2</sub> measurements, the vegetation was only removed in respiration chambers to eliminate the plant respiration effect. The collection and processing of samples was performed according to USDA criteria (Schoeneberger et al., 2002) in the first 20cm soil depth. The organic amendments were applied in the summer of 2007, and the first sampling was taken 20 days after mixing the soil with the sludge. Data were collected at three times over two years, and bimonthly for organic carbon and CO<sub>2</sub>.

Climate data were obtained from the Arganda station (Cod: 3182Y) of the National Meteorological Agency (AEMET), which is located at the experimental farm "La Isla". These data refer to hourly temperature and moisture.

#### *4.1.3.4 Chemical and physico-chemical analysis*

Soil analyses were performed on the fine earth fraction. All of the variables were analysed three times over two years: twenty days after the application, and one and two years after. CO<sub>2</sub> and organic carbon were measured bimonthly. Electrical conductivity (EC) was determined in a 1/5 soil/water suspension using a Crison Micro CM 2200 conductivity meter (ISRIC, 2002). The pH was determined in a 1/2.5 soil/water suspension using a

Crison GLP 21 pH meter (ISRIC, 2002). The calcium carbonate equivalent and soluble hydrogen carbonate (SHC) were estimated according to the acid neutralisation method (FAO, 2006). Soil organic carbon (SOC) was determined using the Walkley-Black methodology through oxidation with potassium dichromate and subsequent titration (FAO, 2006). Dissolved organic carbon (DOC) was extracted in a 1/5 soil/water ratio (m/v) after one hour of agitation, and analysed using a micro NC Analytik Jena autoanalyser. To study the organic components, the carbon associated with labile fractions (hydrolysable organic matter) was separated from more stable carbon forms (recalcitrant organic matter) and was quantified by means of acid hydrolysis using the methodology proposed by Rovira and Ramón-Vallejo (2007). The labile fraction (LP) basically corresponds to sugars, amino acids and fatty acids with low molecular weight, and the recalcitrant fraction (R) contains compounds with a high molecular weight. The recalcitrance index, proposed by the same authors, was also calculated. This index is a ratio between recalcitrant organic carbon and total organic carbon. Soil respiration ( $R_s$ ) data were measured in situ (Davidson et al., 2002), using an infrared gas analyser, model Li-COR 8100, with a 20-cm-diameter chamber. Three PVC cylinders, 20cm in diameter, were randomly installed in each plot for sampling. The cylinders were installed to a depth of 5cm in order to exclude root ingrowth from the side.

##### 4.1.3.5 Statistical analysis

The statistical treatment of the results was performed by analysis of variance (ANOVA) using the F distribution method of Fisher-Snedecor with a confidence level of over 95% ( $p < 0.05$ ) by SPSS v.17 for the Microsoft Windows operating system. To study the relationship between  $CO_2$  and various forms of carbon, a multiple regression analysis was conducted to examine the variables that best explain the  $CO_2$  variations and to determine the extent to which they are related.

#### **4.1.4 Results and discussion**

##### *4.1.4.1 Chemical properties*

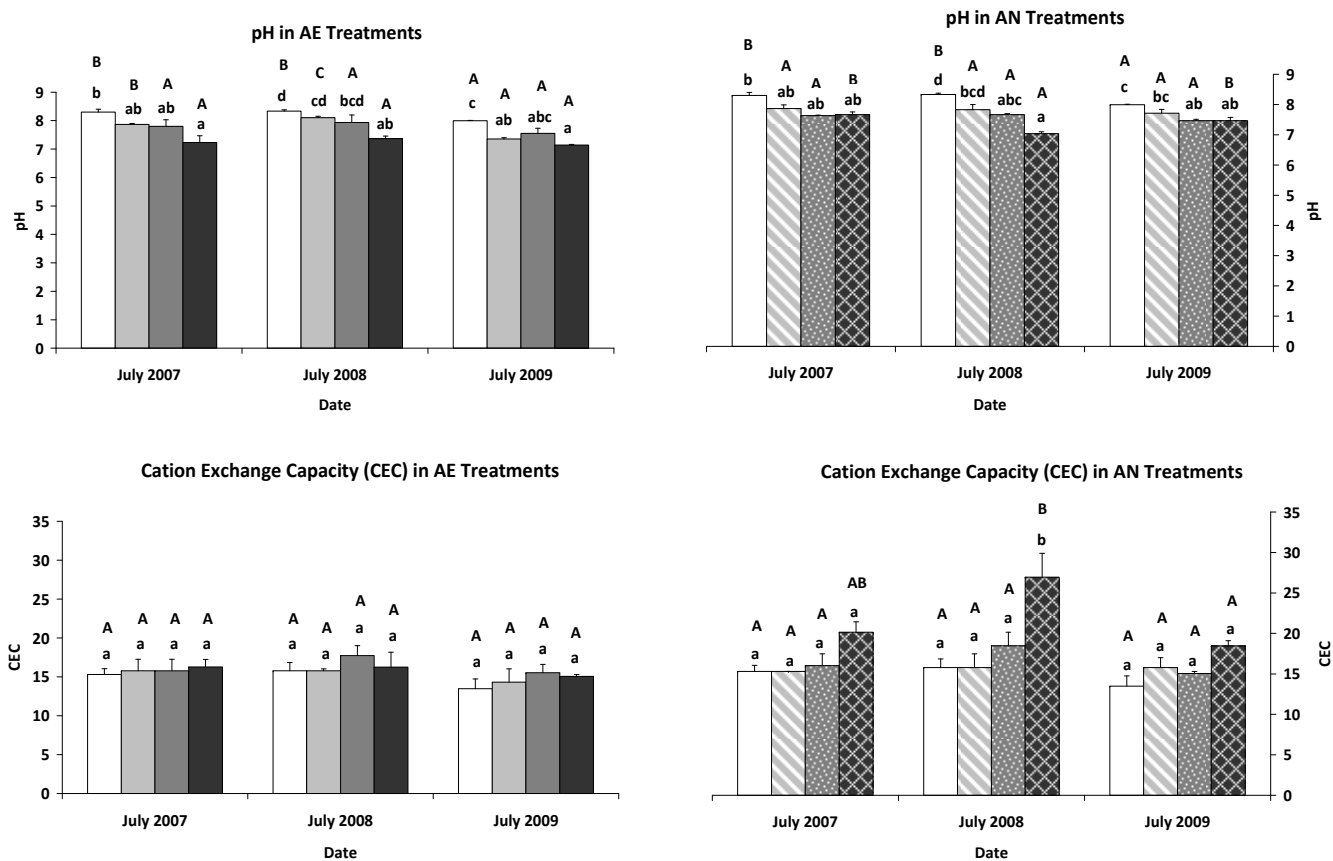
As expected, the application of the sludge caused a decrease in soil pH (Figures 4.1a and 4.1b), and an increase in the EC (Figures 4.1c and 4.1d). These data were related to the sludge type and application rate and were similar to those proposed by other authors (Bastida et al., 2007; Hemmat et al., 2010; Morugán-Coronado et al., 2011). AE treatments had a marked effect at the beginning of the experiment, with a 1-unit decrease in pH values, and an increase in EC of  $0.5 \text{ dS cm}^{-1}$  at the 160 rate; these differences continued after two years. The greatest differences between the AN-treated soils and the CONT soil were observed after one year (a decrease of 1.3 units in pH values and an EC increase of  $0.6 \text{ dS cm}^{-1}$  at the 160 rate). After two years, the AN-treated soils reached EC values close to the CONT soil, as reported by Antolin et al. (2005). AE addition affected soil chemistry to a greater degree than AN sludge.

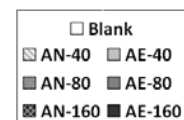
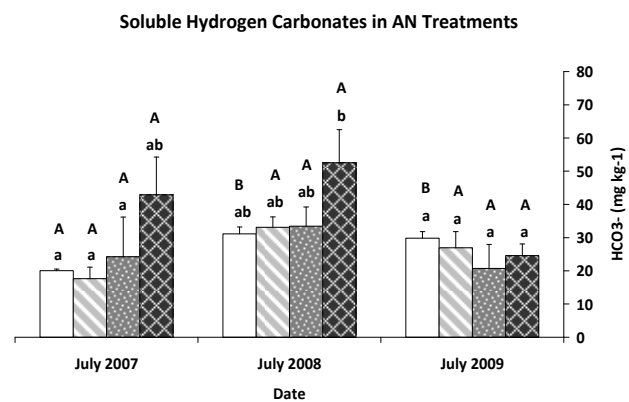
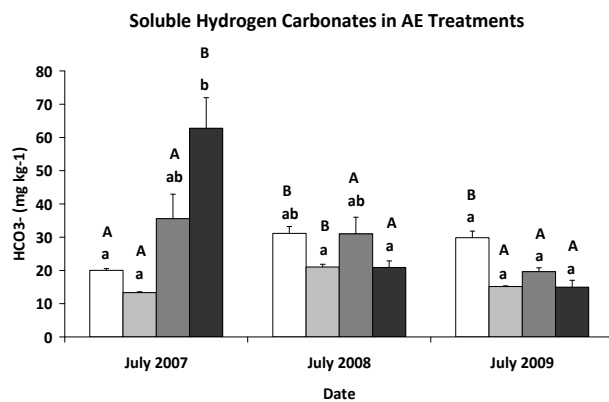
Although there was a clear decrease in pH values after the application of the amendments, no significant changes were observed in the calcium carbonate content (data not shown), since the soils had a high carbonate content, and there were also carbonates in the sludge (Table 4.1.2). This excess of calcium carbonate partially buffered the decrease in pH.

##### *4.1.4.2 Inorganic carbon forms*

However, there was a notable effect on the values of soluble hydrogen carbonate (SHC) (Figure 4.1.1), whose effects were clearly related to application rate and type of sludge. The values of SHC were significantly influenced by pH values and the equilibrium of calcite weathering (Serrano-Ortiz et al., 2010). The AE-treated soils showed the highest values at the first sampling. After one year, the soils recovered to the CONT soil values, with the exception of the AN 160 rate. The CONT soil increased its SHC content over time. In the treated soil, the main pattern was the decrease in SHC. After two years, all amended soils reduced their values to below the CONT soil contents, and no significant differences were found between treatments.

Figure 4.1.1 Chemical properties and soluble hydrogen carbonates





**Capital letters** indicate ANOVA results between dates for each treatment.  
**Lowercase letters** indicate ANOVA results between treatments for each date

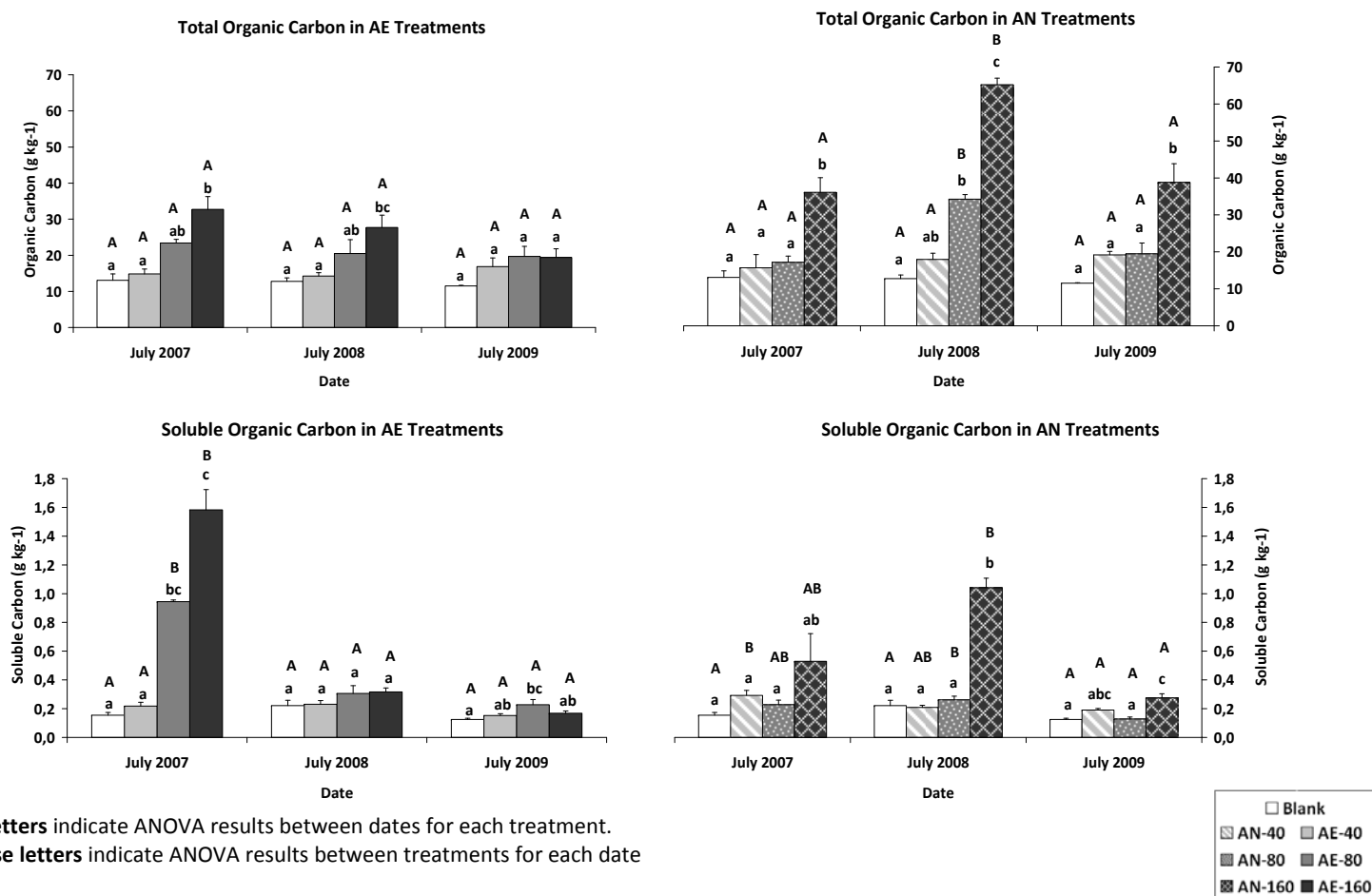
#### 4.1.4.3 *Soil organic carbon*

A statistically significant increase was observed in SOC in the soil after the application of the amendments (Figure 4.1.2). These data were closely related to application rate and sludge type (Albiach et al., 2001). We also found differences in the pattern of SOC evolution over time: AE induced a moderate increase in SOC content at the beginning of the experiment, and after two years, its values were reduced and showed no significant differences with the CONT soil. These results have been previously reported under a Mediterranean climate by Fernandez et al. (2007a). The AN-treated soils underwent a greater increase in SOC than the AE-treated soils. This pattern was rate-dependent and showed a maximum for the 160 Mg ha<sup>-1</sup> rate, one year after application. After two years, only the high rate continued to show a statistically significant difference with the CONT soil.

Dissolved organic carbon (DOC) (Figure 4.1.2) followed the same pattern as total organic carbon. The application of the amendments generated a significant increase in both types of treatments and was rate dependent, as previously observed by Franco-Otero et al. (2012). At the beginning of the experiment, the increase in the content of DOC was only significant in the AE-treated soils. These data were similar to those obtained by Pascual et al. (1998), perhaps due to the greater presence of carbohydrates, as noted by Ros et al. (2003). However, after one year we found no significant differences between the AE and CONT soil, while the AN-treated soil showed a significant increase compared with the initial values. In both cases, their contents reached the CONT soil values two years after application. These decreases in DOC values could be explained by consumption and further mineralisation by the soil microbiota (Ros et al., 2003).



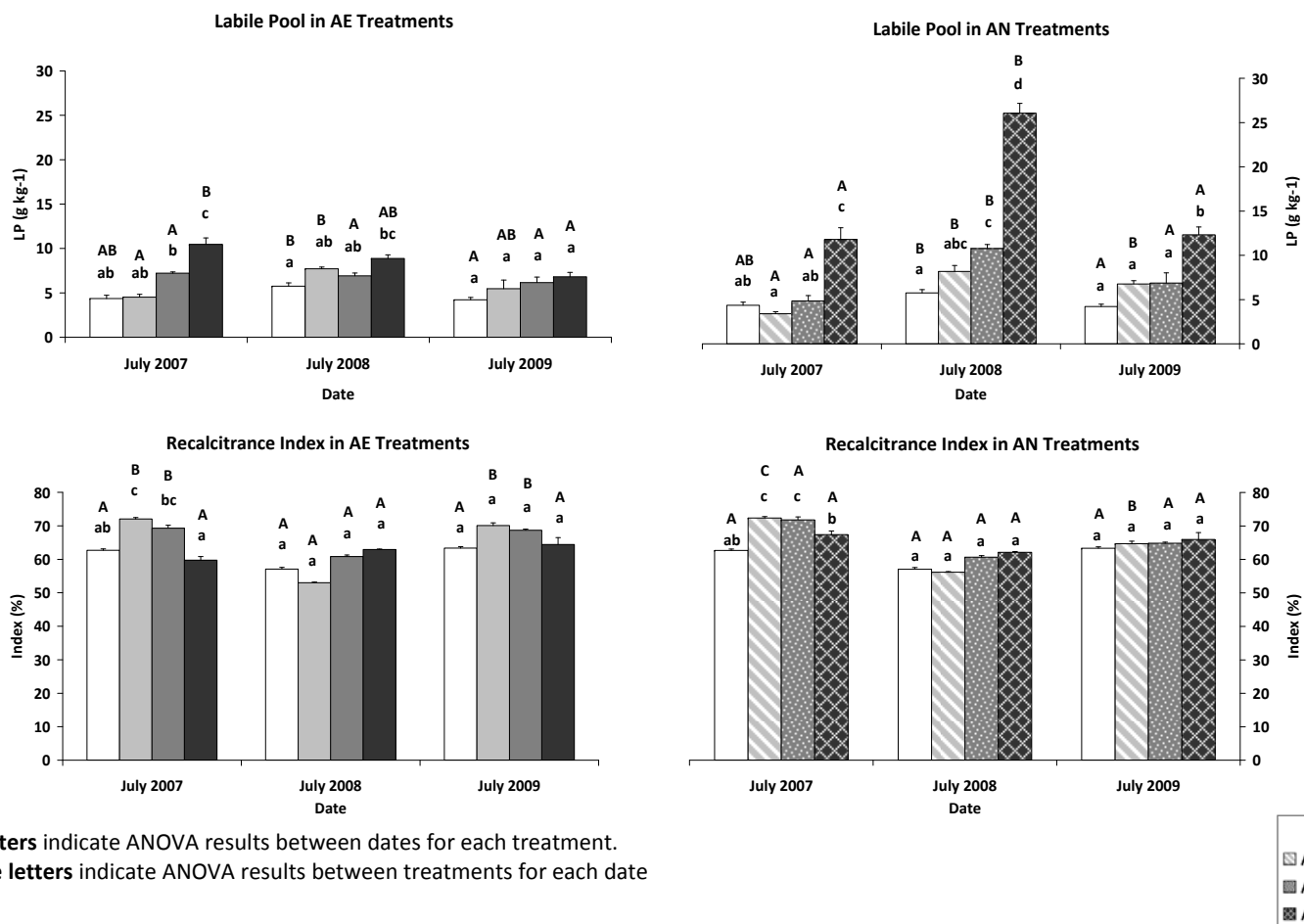
Figure 4.1.2 Total and Soluble Organic Carbon



After the application of the amendments, we observed an increase in all the carbon fractions analyzed (Figure 4.1.3), in correlation with the rate and type of sludge applied. The R form was the main fraction in CONT soil and in both types of sludge-amended soils. The co-evolution over time of the different carbon fractions in the AN-treated soils did not follow a clear pattern. After one year the R and LP contents increased, but after two years significant differences remained only between CONT soil and soil amended with a higher rate of AN. In the AE-treated soils, the trend was towards the CONT soil values, since no significant differences in the R and LP forms were found with the CONT soil two years after the sludge application.

The recalcitrance index (Rovira and Ramón-Vallejo, 2007) allows us to analyse the bioavailability of carbon pools. As this ratio rises, the importance of the R form increases. As expected, after the application, the lower sludge rate induced an increase in the recalcitrance index due to a faster consumption of the labile carbon forms. This effect is still unclear, but can be explained by the sludge being more easily decomposed when it is applied at low rates (Sommers et al., 1979). The effect of the different rates on the recalcitrance index was more pronounced in the AE- than in the AN-amended soils, due to their higher LP contents. This result may be due to the abovementioned higher mineralisation process at lower rates, caused by the greater presence of easily biodegradable compounds in AE (Fernández et al., 2007b). The differences in the consumption rate of the various carbon forms could be due to the fact that the consumption of R is greater at high temperatures than at low temperatures (Bol et al., 2003).

Figure 4.1.3 Organic Carbon Fractions



**Table 4.1.3 Values and ANOVA Results for Recalcitrance Index**

Recalcitrance Index for Aerobic Treatements									
July 2007				July 2008			July 2009		
	Index	ANOVA Results		Index	ANOVA Results		Index	ANOVA Results	
Blanck	62,67	ab	A	57,07	a	A	63,34	a	A
A-40	70,03	c	B	53,02	a	A	70,11	a	B
A-80	69,30	bc	B	60,85	a	A	68,69	a	B
A-160	59,74	a	A	62,92	a	A	64,44	a	A
Recalcitrance Index for Anaerobic Treatements									
A-40	72,35	c	C	56,18	a	A	64,66	a	B
A-80	71,82	c	A	60,66	a	A	64,85	a	A
A-160	67,40	B	A	62,15	a	A	65,97	a	A

#### 4.1.4.4 Soil respiration

We found a clear seasonal pattern in the Rs rate, proving that the evolution of Rs rates is driven by temperature and moisture (Maag and Vinther, 1999; Conant et al., 2000 and 2004; Chen et al., 2010), with significantly higher mineralisation values in spring, and a minimum in winter (Figure 4.1.4). The application of organic amendments to soil promoted an increase in Rs immediately after the addition, and was correlated with application rate (Quemada and Menacho, 2001) and sludge type (Flavel et al., 2005; Paramasivam et al., 2008; Franco-Otero et al., 2012). The stimulating effects of sewage sludge application on CO<sub>2</sub> fluxes have been previously reported in laboratory incubations (Raj and Antil, 2011) and in the field (Álvarez and Lidén, 2008). Throughout the study, the AE-amended soils had higher CO<sub>2</sub> emission rates. We found no clearly higher flush in Rs after the amendment, as we expected following Kuzyakov et al. (2000 and 2010). This could be attributed to the fact that in the early sampling stage (June to October) the weather was extremely dry (126mm precipitation and 21°C), which greatly reduced the mineralisation processes. After a rainy period (spring 2008, with 90mm precipitation in May) and a moderate increase in the average temperatures (2°C from April to May), the Rs rose dramatically in all treatments. Although this process was not tested using the isotope approach, these data may be explained by a priming effect, according to Kuzyakov et al. (2000). We found a clear rate response effect that was higher in the AE-

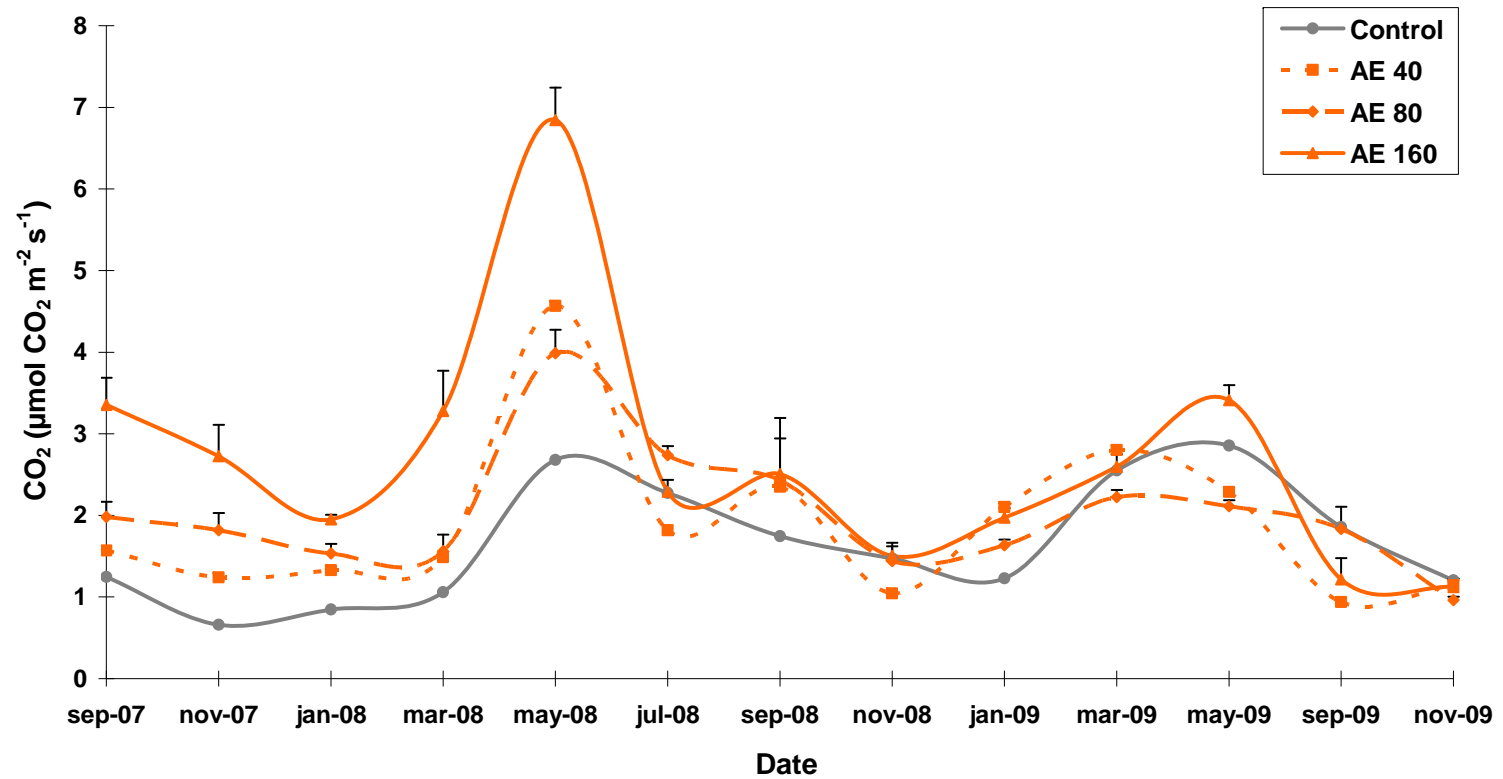
treated plots. The increase in  $R_s$  was related to the use of the rapidly available SOM fractions (Van Veen et al., 1985; Flavel et al., 2005). The effect of the type of stabilisation of an organic waste on the retention of organic C in soil after the amendment has been observed previously (Dere and Stenhouwer, 2011), pointing to the possible advisability of using preferentially AN sludge in order to reduce  $CO_2$  emissions. In the second year of the experiment, in the summer and winter sampling, the differences in rates and type of sludge  $R_s$  practically disappeared. At the end of the study (summer 2009), the sludge-treated soils showed values that were significantly lower than for the CONT soil.

To verify the importance of climate in soil emissions after sludge application, we performed multiple regression analyses between  $CO_2$  emissions and environmental conditions (temperature and moisture). We also added SOC as a factor to study the behaviour of the soil under the effect of the amendments. The results showed that temperature is the main factor in the CONT soil (41.4%), and, in combination with moisture, accounted for 57.4% of the changes in the  $CO_2$  emissions. In the AE-treated soils, moisture was the determining factor (22.3%), with temperature, explaining 25.9% of the variation in the  $R_s$  rates. Finally in the AN-amended soils, moisture was again the main factor (29.2%); although in this case, temperature and the amount of SOC appeared to be an explanatory variable. These three variables explained 33.9% of the variation in  $CO_2$  emissions. The application of sludge improves the significance of soil moisture on  $R_s$ , according to the results of Song and Lee (2010).

The analysis of the separate effects of the different rates showed that in the AE-treated soils, the percentage explained by the variables declined as the rate increased (46.1 to 40  $Mg\ ha^{-1}$ , 23.2% for 80  $Mg\ ha^{-1}$ , and 21.4% to 160  $Mg\ ha^{-1}$ ). Meanwhile, moisture was always the sole explanatory variable, except at the lowest rate (40  $Mg\ ha^{-1}$ ), where temperature also had an impact. The AN-treated soils showed a similar pattern, with a reduced importance of climatic factors on  $R_s$  as the rate of application increased; this effect was lower than for AE sludge-amended soils. (46.2 to 40  $Mg\ ha^{-1}$ , 40.7% to 80  $Mg\ ha^{-1}$ , and 34.2% to 160  $Mg\ ha^{-1}$ ).

Figure 4.1.4 Soil Respiration

## Soil Respiration in AE Treatments



## Soil Respiration in AN Treatments

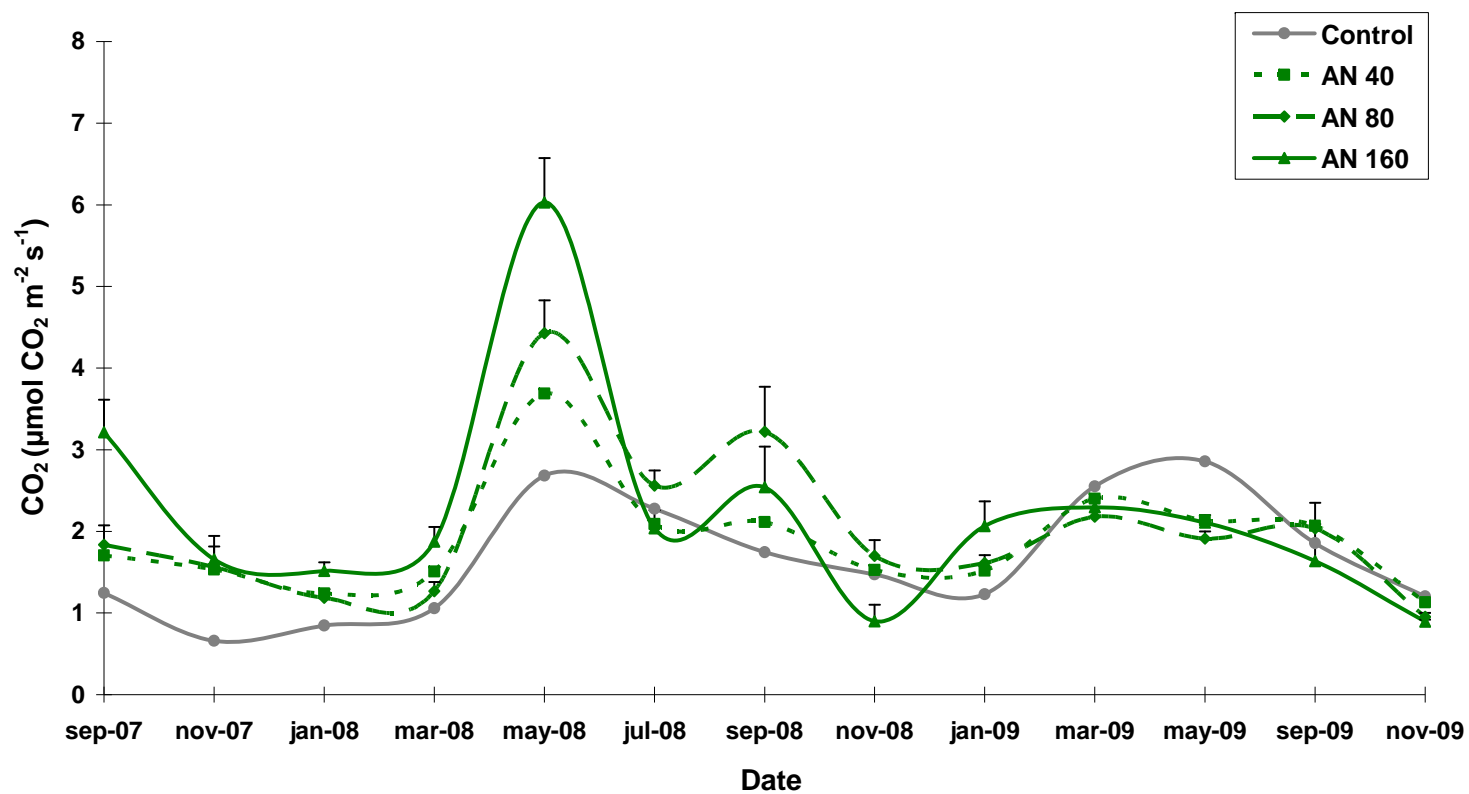


Table 4.1.4 ANOVA results of soil CO<sub>2</sub> emissions

ANOVA Results													
Amendment	jul-07	sep-07	nov-07	ene-08	mar-08	may-08	jul-08	sep-08	nov-08	ene-09	mar-09	may-09	jul-09
Control	a	a	a	a	a	ab	a	a	a	a	b	a	a
Aerobic 40	a	ab	b	a	bc	a	a	a	b	a	a	a	bc
Aerobic 80	a	bc	b	a	ab	b	a	a	ab	a	a	a	ab
Aerobic 160	b	c	c	b	d	ab	a	a	b	a	c	a	abc
Anaerobic 40	a	ab	b	a	ab	ab	a	a	ab	a	a	a	bc
Anaerobic 80	a	ab	ab	a	b	ab	a	a	ab	a	a	a	ab
Anaerobic 160	b	b	b	a	cd	ab	a	a	b	a	a	a	a

The results indicate that the addition of sludge had a determining effect on Rs, by introducing variables that reduced the influence of environmental factors in its variations. This result was reflected in the degree to which these variables explained changes in Rs rates, with a reduction in the explanation that was inversely proportional to the rate of sludge applied. Moreover, the improvement in the quality of soil organic matter shows that of all the environmental factors, the influence of moisture on CO<sub>2</sub> emissions was enhanced in the amended soils. In addition, SOC was not observed to be a relevant factor in CO<sub>2</sub> emissions in the CONT soil or in AE-treated soils, and only contributed 1.7% of the explanation in soils treated with AN. That is, the decline in the importance of environmental factors on soil CO<sub>2</sub> variations was not explained by the SOC values. This could be due to the more minor variations in SOC than in moisture and temperature throughout the time of the experiment. It is also possible that only certain fractions of organic carbon explained these variations (Dumale et al., 2011; González-Ubierna et al., 2012). In summary, the results suggest that the increase in CO<sub>2</sub> emission is due to the consumption of the labile fraction of the sludge carbon while the original SOC remains stable.

#### 4.1.4.5 Soil carbon evolution

The early sampling results showed that the effect of the amendments on soil carbon depends on the type of sludge and the application rate. In the AE-amended soils, an increase was observed in mineralisation processes, with a clear rate effect. This result was reflected in a significant increase in Rs rates, which produced a drop in pH values and an increase in SHC content. In the soils treated with AN, the mineralisation processes were less intense, and the rate effect was more unclear. These differences may be explained by



the varying compositions of the sludge, with AE presenting a higher proportion of SOC and LP forms (Fernández et al., 2009).

The analysis performed one year after the sludge application showed a different effect than expected based on the results of a previous work (González-Ubierna et al., 2012). There was an increase in TOC in soils treated with AN, while the values in the AE-amended soils were maintained, which can be explained by the contribution of TOC from vegetation that grew spontaneously on the plots and was not harvested. The unusual rainfall in late spring and early summer of 2008 caused an explosive growth of vegetation. Some authors (Dube et al., 2012; Lopez et al., 2012) estimated a contribution of SOC from annual vegetation of between 10 and 20 g kg<sup>-1</sup>.

The samples analysed two years after the sludge application evidenced a trend towards recovery of the CONT soil values. Only soils treated with higher rates of AN continued to show significant differences from the CONT soils in all carbon forms measured. In the AE-treated soils, only differences in soil chemical properties (pH and EC) were observed. The differences found between treatments revealed that the AN-amended soils had more complex carbon forms, which made a greater contribution to the maintenance of soil carbon, resulting in lower respiration rates.

#### **4.1.5 Conclusions**

The application of both types of sludge showed a patent impact on soil carbon evolution, with the greatest effects observed in soils treated with the highest rates.

The type of sludge applied also influences soil carbon evolution, to a greater extent in the case of anaerobic sludge. The application of aerobic digested sludge had a greater influence at the early stages, but its effect decreased throughout the first year. This could be related to its high rate of readily mineralized carbon forms. Anaerobic sludge provided more polymerised forms. Although it appeared to have less effect on soil carbon at the beginning of the amendment, this impact became more extensive over time.

The rates of soil CO<sub>2</sub> emissions were related to the sludge type and application rates, with the highest values observed in high doses of AE sludged-soils.

The increase in CO<sub>2</sub> emissions may be related mainly to the consumption of the sludge labile carbon fraction; while the SOC content remained stable.

Further study is required into soil respiration after the application of organic amendments in order to reach a decision as to the most effective type of amendments to configure the soil as a sink for carbon sequestration. These additional studies should be taken into account as part of the decision-making process within the sphere of agricultural policy.

**Acknowledgements:** This work is supported by a grant from the Ministerial Commission of Science and Technology (CGL2006/13915/CLI) and the Spanish Ministry of the Environment and Rural and Marine Affairs (MMA0022/PC08/3-04.2). Thank you very much to Elsevier professional translator services and Mss Prudence Brooke-Turner, professional translator, for the careful revision of the English. We would like to thank all the employees of the La Isla experimental station (IMIDRA) for their support, especially Dr. Cristina Rubio. We are members of the FITOSOL research group ([www.ucm.es/info/fitosol](http://www.ucm.es/info/fitosol)).

## **Evolución de la material orgánica del suelo tras la aplicación de altas dosis de enmiendas orgánicas en un suelo calcáreo mediterráneo.**



**De este capítulo se ha derivado la publicación:**

*“Soil organic matter evolution after the application of high doses of organic amendments in a Mediterranean calcareous soil”*

González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., Cruz, M.T., Carrero, B. and Casermeiro, M.A.

Publicado Journal of Soils and Sediments



## **4.2 Evolución de la materia orgánica del suelo tras la aplicación de altas dosis de enmiendas orgánicas en un suelo calcáreo mediterráneo**

### **4.2.1 Resumen**

El objetivo de este trabajo fue investigar la coevolución de la materia orgánica del suelo (SOM) y las propiedades del suelo en un ecosistema agrícola semiárido mediterráneo, así como la evolución a lo largo de un año de las diferentes formas de carbono orgánico e inorgánico del suelo y su influencia en la respiración del suelo tras de la aplicación de una dosis alta de tres enmiendas orgánicas diferentes.

Se aplicó una sola dosis ( $160 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) de tres tipos de enmiendas orgánicas: lodo de depuradora estabilizado aeróbicamente (AE), lodo de depuradora estabilizado anaeróbicamente (AN) y compost de residuos sólidos urbanos (MSWC), en un suelo calcáreo Mediterráneo. El área de estudio se localiza en el sureste de la Comunidad de Madrid (España), caracterizada por un clima mediterráneo con un marcado contraste climático estacional y diario. Se analizaron las diferentes formas de carbono orgánico e inorgánico del suelo y las tasas de respiración. Las mediciones se han realizado trimestralmente durante un año.

Los resultados mostraron que la co-evolución de SOM y el suelo depende en gran parte del origen y la composición de las enmiendas orgánicas utilizadas. El lodo AN afectó más a la química del suelo. La materia orgánica (MOS) proporcionada por el tratamiento con lodo AE sufrió de procesos de mineralización más intensos que la de los lodos AN, además, la SOM procedente de MSWC fue más estable. Este comportamiento podría explicarse por las diferentes formas de carbono que intervienen en cada caso. Los tratamientos han contribuido también de manera diferente a las tasas de respiración del suelo, siguiendo la secuencia: AE > AN > MSWC. La aplicación de enmiendas orgánicas en los suelos calcáreos mediterráneos también modificó el pool de carbono inorgánico.

La coevolución de la MOS y el suelo tras la aplicación de enmiendas orgánicas depende de la composición química y del origen de las mismas. El proceso de toma de decisiones sobre la aplicación de enmiendas orgánicas procedentes de residuos urbanos con respecto a la política agrícola debe tener en cuenta el diferente comportamiento en el suelo de los diferentes tipos de enmiendas.

## **Soil organic matter evolution after the application of high doses of organic amendments in a Mediterranean calcareous soil**

### ***Abstract***

*Purpose:* We investigate the co-evolution of soil organic matter (SOM) and soil properties in a semiarid Mediterranean agro-ecosystem, as well as the one year evolution of the different pools of soil organic and inorganic carbon and their influence on soil respiration after the application of a single high dose of three different organic amendments.

*Material and methods:* We applied a single high dose (160 Mg ha<sup>-1</sup> in dry weight (DW)) of three types of organic amendments: aerobically digested sewage sludge (AE), anaerobically digested sewage sludge (AN) and municipal solid waste compost (MSWC), in a calcareous Mediterranean soil. The study area is located in the southeast of Madrid (Spain), characterized by a Mediterranean climate with a marked seasonal and daily contrast. We analyzed different forms of soil organic and inorganic carbon and soil respiration rates. The measurements have been performed quarterly for one year.

*Results and discussion:* The results showed that the co-evolution of SOM and soil largely depends on the origin and composition of the organic amendments used. The AN sludge affected more the soil chemistry. The organic matter (OM) provided by AE treatments underwent more intense mineralization processes than AN, with the OM from MSWC being more stable. This behaviour could be explained by the different pools of carbon involved in each case. The treatments contributed differently to soil respiration rates following the sequence: AE > AN > MSWC. The application of organic amendments in calcareous Mediterranean soils also modified the inorganic carbon pools.

*Conclusions:* SOM and soil co-evolution after organic amendments application depends on the origin and chemical composition of the inputs. The decision-making process of urban organic wastes application with regard to agricultural policy must take into account the different behavior in soil of the different types of amendments.

#### **4.2.2 Introduction**

The application of organic amendments to soil is one method of increasing the pool of soil organic matter (SOM). However, the potential of these organic inputs for C sequestration is under discussion. It is not clear whether most organic amendments can be considered to be suitable material for contributing to the pool of humic-like soil stable substances or whether, on the contrary, they are consumed by soil microorganisms and released as CO<sub>2</sub>, and whether the application of organic amendments to agricultural soil may result in increased greenhouse gas emissions (Fangueiro et al., 2007). It is therefore extremely important to understand the evolution and stabilization of external inputs of organic matter (OM) in soils in order to calculate the amendment application rates and to be able to predict the element balance and the residual effect of the OM added (Tinoco et al., 2004).

The SOM concentration usually rises with increasing organic inputs, although the specific empirical relation depends on soil moisture and temperature regimes, nutrient availability (N, P, K, S), texture and climate. In addition to the quantity of the input, the quality of biomass can also be important in determining the soil organic carbon (SOC) pool (Lal, 2004a).

Agricultural soils from many parts of the Mediterranean regions are often subjected to severe degradation processes, accompanied by a gradual decrease in SOM due to agricultural practices that often lead to a high risk of erosion and desertification (Fernández et al., 2009). A drop in SOM content adversely affects soil fertility through an alteration of the physical, chemical and biological properties of soils. One way to reverse this degradation of the soil quality is by using organic amendments. These amendments enable the OM content of soils to be restored, and thus their physical, chemical and biological functions (Stevenson, 1994).

The high OM content of sewage sludge has reinforced its use as a soil organic amendment in agriculture, especially in arid and semi-arid Mediterranean areas where high summer temperatures combined with intensive and inappropriate cultivation practices promote a constant decrease in SOM (Albiach et al., 2001). The importance of inorganic carbon in the soil carbon cycle is also under review (Chantigny et al., 2001; Rochette et al., 2000 and 2004). However, many authors note that their contribution to

the soil CO<sub>2</sub> flow is insignificant compared with the contribution of biotic CO<sub>2</sub>, especially in measurements of years or decades (Kuzyakov, 2006). Furthermore, treatment of municipal wastewater in Spain generates a huge volume of sewage sludge (over 1 million ton/year (DW), MARM, 2003), whose disposal represents an environmental challenge. Therefore, sewage sludge produced by anthropic activities is a prime candidate for recycling into a soil amendment, and is a good disposal option from an environmental and economic point of view (Fernández et al., 2007b).

The correct management of organic amendments such as sewage sludge in agriculture relies mainly on an adequate increase of the SOM and a correct balance between the release of and demand for mineral nutrient to the soil (Fernández et al., 2007a). The knowledge of the dynamics of C mineralization in soil after sewage sludge or another organic addition is therefore of great interest.

Although the study of the effects of different organic amendments such as composted sewage sludge, thermally-dried sludge, slurry, etc. on soil properties and C mineralization has been the object of numerous studies (Albiach et al., 2001; Pérez-Lomas et al., 2010; Franco-Otero et al., 2011), the evolution of the different pools of carbon (labile and recalcitrant pools) after organic amendments and their impact on CO<sub>2</sub> fluxes has been less well studied.

The quality of the SOM depends on its distribution among labile and recalcitrant pools, and can be defined as the capacity of OM to be used by soil microorganisms as a source of energy (Rovira y Ramon-Vallejo, 2007). Therefore, high microbial activity is associated to the organic carbon content and easily decomposable substrates availability, which results in a rapid decomposition and an increase in CO<sub>2</sub> emission from the soil. Thus depending on which pool of carbon is predominant, the evolution of CO<sub>2</sub> is affected in either one way or another.

After any input of OM there is an increase in the release of CO<sub>2</sub> compared to soil mineralization without addition, as a result of the interactions between the transformation of the added substances and the natural soil C cycle. These interactions, which cause an extra release of soil C, are known by the term “priming effect”. Kuzyakov defines the priming effect (PE) as intense short-term changes in the turnover of native SOM caused by comparatively moderate treatments of the soil (Kuzyakov et al., 2000). During PE, large amounts of P, N, and other nutrients may be released or immobilized in



the soil within a very short time after the addition of easily-decomposable organic substances. Although many mechanisms for PE have been proposed (Kuzyakov, 2010), the most widely accepted is the acceleration or retardation of soil organic turnover due to increased activity or amount of microbial biomass. The C availability of the organic amendments depends on the decomposition rates and accessibility of the microorganism to these substrates (Kuzyakov, 2010). The decomposition rates of soil OM pools are dependent on environmental factors such as temperature and soil moisture and on the state of the microbial biomass (Blagodatskaya and Kuzyakov, 2008). The monitoring of the evolution of SOM is key for understanding the variety of processes which cause PE (Blagodatskaya et al., 2011).

The main aim of this work is to investigate the co-evolution of SOM and soil properties in a semiarid Mediterranean agro-ecosystem after the application of a single high dose of three different organic amendments (AE and AN digested sewage sludges and a MSWC) as well as the one-year evolution of the different pools of soil carbon (labile and recalcitrant C pools) after inputs of external OM, and their impact on soil respiration. We focus on SOM evolution through the analyses of soil organic carbon, CO<sub>2</sub> emissions, and organic (soluble, labile and recalcitrant) and inorganic carbon fractions.

### **4.2.3 Material and methods**

#### *4.2.3.1 Study area*

The study area is located in an experimental station in Arganda del Rey, in the southeast of Madrid, Spain (UTM X: 457673.84, UTM Y: 4462824.553). Geomorphologically, it lies on the former alluvial terrace of the left bank of the Jarama river basin, on quaternary sediments, mainly sand and silt.

Alluvial sediments have caused the ancient calcareous Fluvisol to have its present Anthrosol characteristics (FAO, 2006). This soil is characterized by a strong human influence due to agricultural use. Morphologically, an Ap horizon (0-40cm) can be distinguished with properties similar to an Anthragric horizon, with organic carbon content close to 1%, a moderately basic pH (pH =8), low surface stoniness and high permeability; and a subsurface horizon (40-80cm) with the typical characteristics of

agricultural land, showing subsurface compaction due to the intensive use of farm machinery (Table 4.2.1). (Casermeiro et al., 2007).

**Table 4.2.1 Specific characteristics of the Ap horizon, separated by two depths.**

Variable	Unity	0-20 cm.	20-40 cm.
Texture (%)	Fine Sand	7,78	1,53
	Silt	41,28	41,17
	Sand	23,61	29,13
	Clay	27,34	28,17
	Class	Coarse clay	Coarse clay
Porosity	%	40,69	-
Organic Carbon	g kg <sup>-1</sup>	13,08	12,48
Carbonates	%	8,80	8,90
CIC	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	15,32	13,61
Na	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	0,54	0,56
K	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	1,47	1,53
Ca	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	12,36	10,66
Mg	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	1,03	0,86
pH	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	8,30	8,15
EC <sub>1:5</sub>	dS m <sup>-1</sup>	0,19	0,27

The site is typical of a Mediterranean pluvisseasonal-oceanic bioclimate on a dry meso-Mediterranean floor ([www.globalbioclimatics.org](http://www.globalbioclimatics.org)). The climate is characterized by distinct seasonal and daily contrasts. The average annual rainfall is 430mm, with a very marked minimum in summer (50mm). The average annual temperature is 19°C, with maximums in summer that often exceed 35°C. These conditions confer singularity to the study, since the Mediterranean climate imposes a double hardship on the biological systems: limited water in summer and unpredictable rainfall (Valladares, 2004).

#### 4.2.3.2 Organic amendments

Three types of amendments were used: aerobically digested sewage sludge (AE), anaerobically digested sewage sludge (AN) and municipal solid waste compost (MSWC), all of them representative of organic wastes from urban areas. AE and AN were collected from two wastewater treatment plants located in Toledo and San Fernando de Henares,

respectively. After its generation, AE only underwent an air-drying process; however, AN was treated in digesters without the addition of oxygen. The MSWC was collected from Valdemingomez, the main landfill site for the city of Madrid, and derives from composting the organic fraction of the municipal solid wastes from Madrid metropolitan area. The main chemical properties of the amendments applied are shown in Table 4.2.2. In terms of metal content, sludge obeys national and European legislation for agricultural use (86/278/EEC Directive and RD 1310/1990 regarding sludge use in agriculture).

**Table 4.2.2 Specific characteristics of the organic amendments**

Variable	Anaerobic Sludge	Aerobic Sludge	Municipal Solid Waste Compost
Dry weight (% DW)	22.00	23.29	33,90
C (g kg <sup>-1</sup> )	249,90	344,90	286,50
N (g kg <sup>-1</sup> )	46.00	28.40	19.10
C/N	5,43	12.14	15.00
P (mg kg <sup>-1</sup> )	35.00	25.10	37.00
pH	7,7	8,2	6,5
EC (μS cm <sup>-1</sup> )	1435	1486	10870
CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup> (%)	4,13	1,32	5,9
Ca (g/kg)	50,00	36,60	41,00
K (g/kg)	4,40	3,60	4,70
Mg (g/kg)	4,80	5,00	5,10
Fe Tot. (g/kg)	6,17	12,87	5,10
Cd (mg/kg)	< 2,00	1,73	0,89
Cr (mg/kg)	71,00	71,35	108,00
Cu (mg/kg)	232,00	285,39	231,00
Hg (mg/kg)	5,00	0,37	1,43
Ni (mg/kg)	35,00	27,04	7,53
Pb (mg/kg)	265,00	130,62	132,00
Zn (mg/kg)	1296,00	471,76	433,00

#### 4.2.3.3 Experimental plot design and sampling

The property lay fallow for 10 years, after which it was ploughed for the present experiment. Three randomized blocks of soil plots (10x15 m each one) were designed. The plot treatments included an unamended control (C), and three types of organic amendments: MSWC, AE and AN, as stated previously. The rate was 160 Mg ha<sup>-1</sup> (DW)

and only one single application. This dose was selected because in our previous experiment (Cruz et al., Unpublished data) we found significant differences comparing with other amounts. We aimed to force the ecosystem in order to observe clearly the effect of the amendment.

The amendments were applied and mixed with the topsoil using a roto-tiller to a depth of 20cm. No maintenance work, watering or cutting of the vegetation was done on the plots after the organic incorporation. Before the CO<sub>2</sub> measurements, vegetation was only removed in respiration chambers in order to eliminate the plant respiration effect.

The collection and processing of samples was performed according to USDA criteria (Schoeneberger et al., 2002). The organic amendments were added in spring (year 2010) and the first sampling was taken 20 days after mixing the soil with the sludge. Data collection was done quarterly over one year.

##### *4.2.3.4 Chemical and physico-chemical analysis*

Soil analyses were done on the fine earth fraction. pH, EC, calcium carbonate content, soluble hydrogen carbonate, soluble organic carbon, total organic carbon, CO<sub>2</sub> and OM fractions (hydrolysable and recalcitrant fractions) were analysed. All of them, except calcium carbonate, were analysed quarterly over one year. Calcium carbonate was analysed twice, in the first and final sampling.

- Electrical conductivity (EC) was determined in a 1/5 soil/water suspension by measurement with a Crison Micro CM 2200 conductivity meter (ISRIC, 2002). The pH was determined in a 1/2.5 soil/water suspension using a Crison GLP 21 pH meter.
- Calcium carbonate equivalent and soluble hydrogen carbonate were estimated according to the acid neutralization method (FAO, 2006).
- Organic carbon (OC) was determined using the Walkley-Black methodology, through oxidation with potassium dichromate and subsequent titration (FAO, 2006). Soluble OC was also analysed, due to its greater facility for mineralization. Soluble OC was extracted in a 1/5 soil/water ratio (m/v) after 1 hour of agitation and analysed using a micro NC Analytik Jena autoanalyzer.
- For the study of the organic components, the carbon associated to more labile fractions (LP1 and LP2 hydrolysable OM) was separated from more stable carbon forms

(recalcitrant OM, R) and quantified by means of acid hydrolysis, using the methodology proposed by Rovira and Ramón-Vallejo (2007). The labile fraction LP1 basically corresponds to sugars, amino acids and fatty acids with low molecular weight; the labile fraction LP2 contains compounds with a greater degree of polymerisation; and the recalcitrant fraction contains compounds with a high molecular weight (polymers of lipidic nature, fats, waxes, resins, suberins and lignin).

- Respiration data were measured in situ (Davidson et al., 2002), using an infrared gas analyzer, model Li-COR 8100, with a 20-cm diameter chamber. Three PVC cylinders, 20 cm in diameter, were randomly installed in each plot for sampling. The measurements were made at three times of the day, and represented only the daily average: at dawn (from 6-8 am, depending on the season of the year), with minimum daily temperatures; at midday (from 12-3 pm), with maximum daily temperatures; and in the evening (from 5-8 pm), with intermediate values. In the results section we present the daily average, although statistical procedures have been used on all measures to give greater strength to the analysis.
- Soil moisture and temperature probes (probe ECH<sub>2</sub>O, model EC-20 for moisture and ECTM for temperature) were installed, which measured continuously and throughout the experimental period.

#### 4.2.3.5 Statistical analysis

The statistical treatment of the results was performed by an analysis of variance (ANOVA) using the F distribution method, Fisher-Snedecor, with a confidence level of greater than 95% ( $p < 0.05$ ), by SPSS v.17 for the Microsoft Windows operating system. This analysis was used to study the differences between treatments and different sampling dates. In addition, a principal component analysis was done in order to establish the main factors related to SOM evolution (Statgraphics for Microsoft Windows).

In order to study the relationship between CO<sub>2</sub> and various forms of carbon, multiple regression analysis was done to examine the variables that best explain the CO<sub>2</sub> variations. These results indicate the main variables affecting the observed variations in respiration rates and to what extent they related to.

#### **4.2.4 Results and discussion**

##### *4.2.4.1 Chemical properties*

The application of organic amendments to agricultural soil has generated a decrease in pH values, which has been corroborated by other authors in calcareous soils (Bernal et al., 1992; Antolín et al., 2005). AN addition caused the greatest reduction in pH values, followed by AE sludge and MSWC treatments. No significant differences were found in pH values after six months of treatment with AE or MSWC amendments. At the third sampling, corresponding to nine months after the amendment, the difference between treatments and control disappeared (Fig. 4.2.1). The reduction of pH values could be related to the formation of organic acid from the degradation of sludge, as pointed out by Franco-Otero et al. (2011). The overall reduction in the differences with the control is explained by the high calcium carbonate content of the soil and a decrease in microbial activity with time. A lower pH may be an indication of higher microbial activity as a result of the formation of organic acids (Kaschl et al., 2002).

Although the effect of organic amendments on pH values has been comprehensively studied in acid soils (Madejon et al., 2006; González et al., 2010), there are few studies on calcareous soils, and the results differ widely (Burgos et al., 2010). The same effect of decrease in pH after organic input in calcareous soils has been previously noted after both the addition of sludge (Moreno et al. 1996) and MSWC (Bastida et al., 2007; Florido et al., 2011). Hemmat et al. (2010) reported a dose-dependent amendment relationship on pH values.

Organic amendments have increased EC values, particularly three months after application, due to the increase of soluble elements after application and to the reduction in rainfall in summer. The application of MSWC has not been significant influence on conductivity values. Our data contradict those of other authors (Bastida et al., 2007) who found a general increase in EC after MSWC application. AE sludge amendment appears to have had a minor influence on conductivity, showing significant differences with the control only in autumn. AN sludge appears to be the most influential, with values which were significantly higher in the first three samples, although these differences disappear after winter (Fig. 4.2.1). Ferreras et al. (2006) showed a slight increase in EC values in soils

after application of certain organic amendments, and Casado-Vela et al. (2007) and Morugán-Coronado et al. (2011) showed a dose-dependent effect in increments of EC. The lower value of pH in AN sludge-treated soils may explain why, despite having higher EC in origin, AE sludge-treated soils have had lower EC values. The inverse correlation between pH and EC has already been noted (Guang Ming et al., 2006; Li et al., 2007). The EC increase has been explained by the addition of soluble salts and OM mineralization (Franco-Otero et al. 2011).

#### 4.2.4.2 *Inorganic carbon*

The application of organic amendments to the soil produced a slight decrease in calcium carbonate content, except in MSWC treatment (Fig. 4.2.1). The reduction of  $\text{CaCO}_3$  contents is associated with the buffer response of soil to acidification due to organic amendment. The same was previously cited by Bastida et al. (2007) and Hemmat et al. (2010), who reported a dose-dependent effect. Furthermore, in Mediterranean environments the dissolution of  $\text{CaCO}_3$  is driven by seasonal patterns (Serrano-Ortiz et al., 2010). In contrast, application of MSWC causes an increase in calcium carbonate, as this amendment has calcium carbonate in its composition. The presence of carbonates in composted urban wastes has already been noted by Actis et al. (1981). No significant variations were observed in content one year after application in either case.

In treated soils, soluble hydrogen carbonate was significantly reduced in the early samplings. In MSWC amended plots, differences between plots disappeared after 6 months (second sampling). However, the application of sludge interrupted the stable evolution of soil, represented in the control samples. Soils treated with AE sludge underwent a sudden decrease in values in summer and autumn. In soils amended with AN sludge the decline could be seen in the first sampling. AN sludge-treated soils showed the greatest differences with the control, and these only disappeared in the last sampling. In both cases the values were restored in spring samples after one year, although the recovery in AE sludge treatment occurred in the winter sampling.

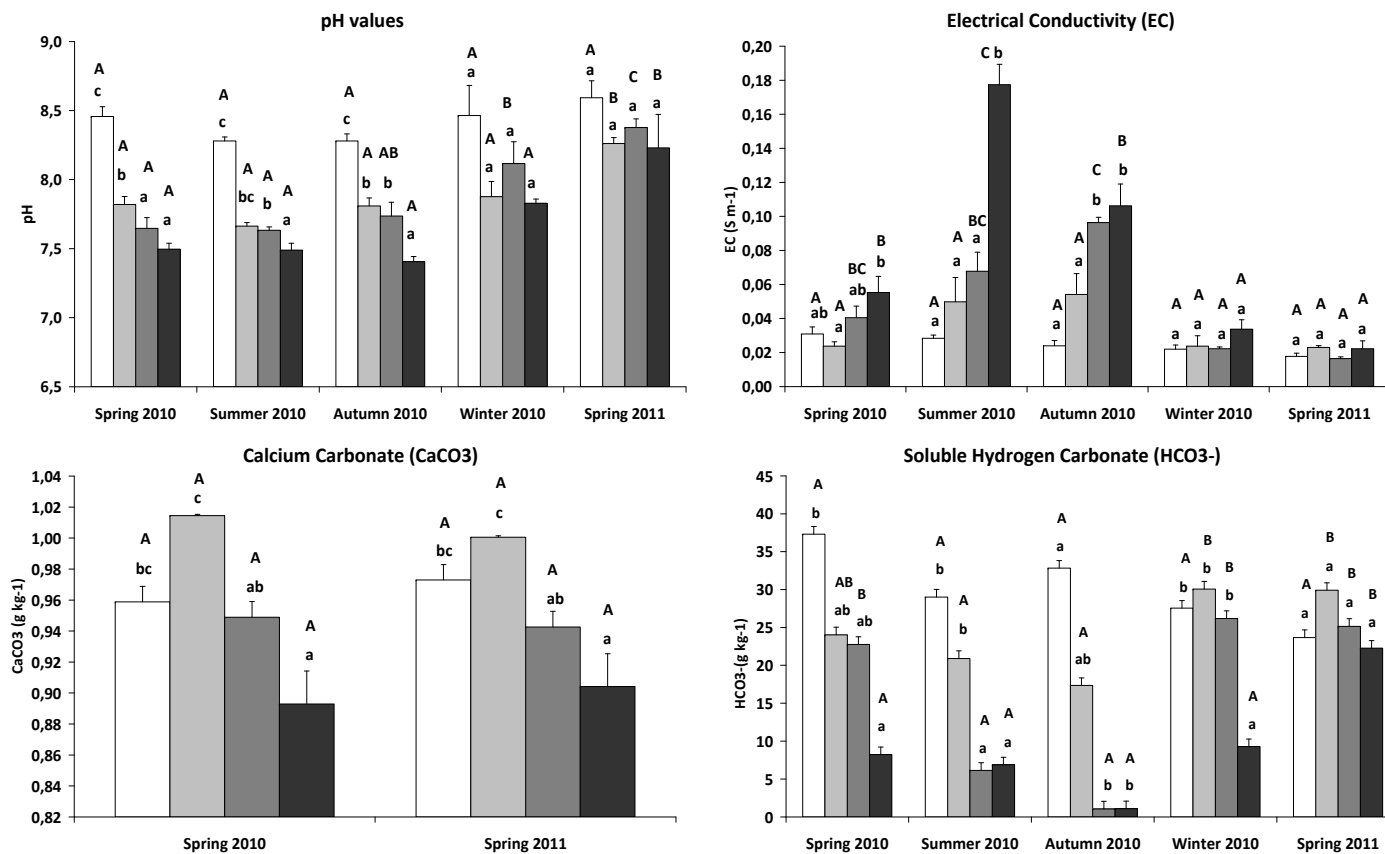
The values of soluble hydrogen carbonate (Fig. 4.2.1) were greatly influenced by pH values, and the equilibrium of calcite weathering (Serrano-Ortiz et al., 2010). A pH value close to 8 produces a higher content of hydrogen carbonate, while a pH below 8 will

generate a shift of balance towards carbonic acid, causing a decrease in hydrogen carbonate content. The decrease in pH values in soils treated with sludge caused that the equilibrium was shifted to carbonic acid. Meanwhile, the MSWC treatment produced less effect on pH and also had some effect on carbonate content, so the decline was smaller and the recovery of the values was faster. In untreated soils, the pH balance means that the equilibrium generated more hydrogen carbonate content. With the recovery of pH values in treated soil, the differences were reduced.

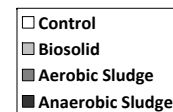
The decrease in values might be due to the lack of water in the summer months under a Mediterranean type of climate. This decrease in water content, combined with an excess of calcium in the soil, produced a secondary effect of re-carbonation. Calcium carbonate precipitation and crusting is a very common feature in soils in arid and semiarid regions if the lithological materials contain a high quantity of this component (Ruellan, 1999; Serrano-Ortiz et al., 2010). Therefore, soluble hydrogen carbonates will form part of insoluble calcium carbonate.



Figure 4.2.1 Soil chemical properties and soil inorganic carbon forms



**Capital letters** indicate ANOVA results between dates for each treatment.  
**Lowercase letters** indicate ANOVA results between treatments for each date



#### 4.2.4.3 *SOM evolution*

The application of organic residues clearly increased the levels of SOM compared to non-treated soils, in agreement with other authors (Albiach et al., 2001; Heras et al., 2005). The three organic residues tested significantly increased the SOC content at the start, but no differences were found between them (Fig. 4.2.2). This lack of significant differences in soil carbon content after amendments could be explained by the high doses used. Albiach et al. (2001) suggest that the greater accumulation of OM in soil after the addition of AE compared to AN sludge is related to the sludge dose, and decreases proportionally with the increase in the application dose.

Although the comparative study of treatment at the first point did not show any significant differences, the evolution of the SOC content differs over the testing time. The OC content in soils subjected to sewage sludge treatments tended to decrease with time, especially in AE-amended soil. The AE-treated soil underwent a marked reduction in organic carbon content after the first sampling, and no significant differences were found compared to the control in the sampling after three months. This decrease was less marked for the AN-amended soil, which maintained significant differences with the control until up to 3 months.

The MSWC treatment did not follow this pattern, and the SOC content remained the highest throughout the year. The SOC content in the control plots were also constant throughout the year, and we found no significant differences between dates for either of them. In agreement with other authors (García-Orenes et al., 2005), the application of sewage sludges significantly increased SOC. We found the SOC value to be significantly higher after MSWC treatment than after sewage sludge treatments (AN or AE) from the three months sampling onwards. Our results fit well with other authors who reported an increase in total SOC content after the addition of composted sewage sludge and thermally-dried sewage sludge to soils, and a slight decrease in SOC over time (Fernandez et al., 2007b). They attributed the apparent greater residual effect of thermally-dried sewage sludge compared to composted sludge to the stronger decomposition and the higher recalcitrance of the remaining OM. This hypothesis could also explain our results, and the greater residual effect of MSWC one year after the amendments may be

attributed to the fact that a large part of the MSWC material is less available to be degraded and incorporated into the soil.

The application of MSWC, AE and AN as organic amendments to soil promoted a large increase in soil respiration immediately after the addition (Fig. 4.2.2), according to other authors (Álvarez et al., 1998; Flavel et al., 2005; Paramasivam et al., 2008). This is corroborated by the fact that microbial activity has been found to increase in organically amended soils, which can be attributed to the stimulating effect of added decomposing OM (Franco-Otero et al., 2011).

AE-treated soils underwent the highest increase in respiration of all the treatments. AN-amended soils showed an intermediate increase compared to MSWC and AE. Although MSWC treatment produced a slight increase in soil respiration, it was significantly higher than in untreated soil. The stimulating effects of sewage sludge application on CO<sub>2</sub> fluxes have been previously reported in laboratory incubations (Raj and Antil, 2011) and in the field (Álvarez et al., 2008).

There have been previous reports of increased release of CO<sub>2</sub> after OM amendments as a result of the interactions between the transformations of the added substances SOM decomposition (Kuzyakov, 2006; Fangueiro et al., 2007). These interactions, which cause a short-term extra release of soil C as CO<sub>2</sub>, are known by the term of “priming effect”. The three amendments assayed resulted in a priming effect that differs according to the nature of the material added.

Temperature and soil moisture are the most important climate factors controlling soil respiration, and soil respiration may therefore show a significant response to minor climate changes (Conant et al., 2000, 2004; Chen et al., 2010). Typically, soil respiration increases exponentially with temperature when moisture or another factor is not limiting. Because soil water content, in common with soil temperature, is related to climate conditions, the time of the year when the organic amendment is applied strongly influences the conditions under which the transformations of the added C will occur, and the amounts of CO<sub>2</sub> produced, as stated previously. The effects of abiotic factors such as temperature and soil moisture on the biological processes involved in soil respiration were also shown in laboratory conditions (Maag and Vinther, 1999). We found a clear seasonal pattern in respiration rates in the control soil (higher in summer and a minimum

in winter), proving that CO<sub>2</sub> emissions are highly influenced by soil temperature and moisture (see Fig. 4.2.2)

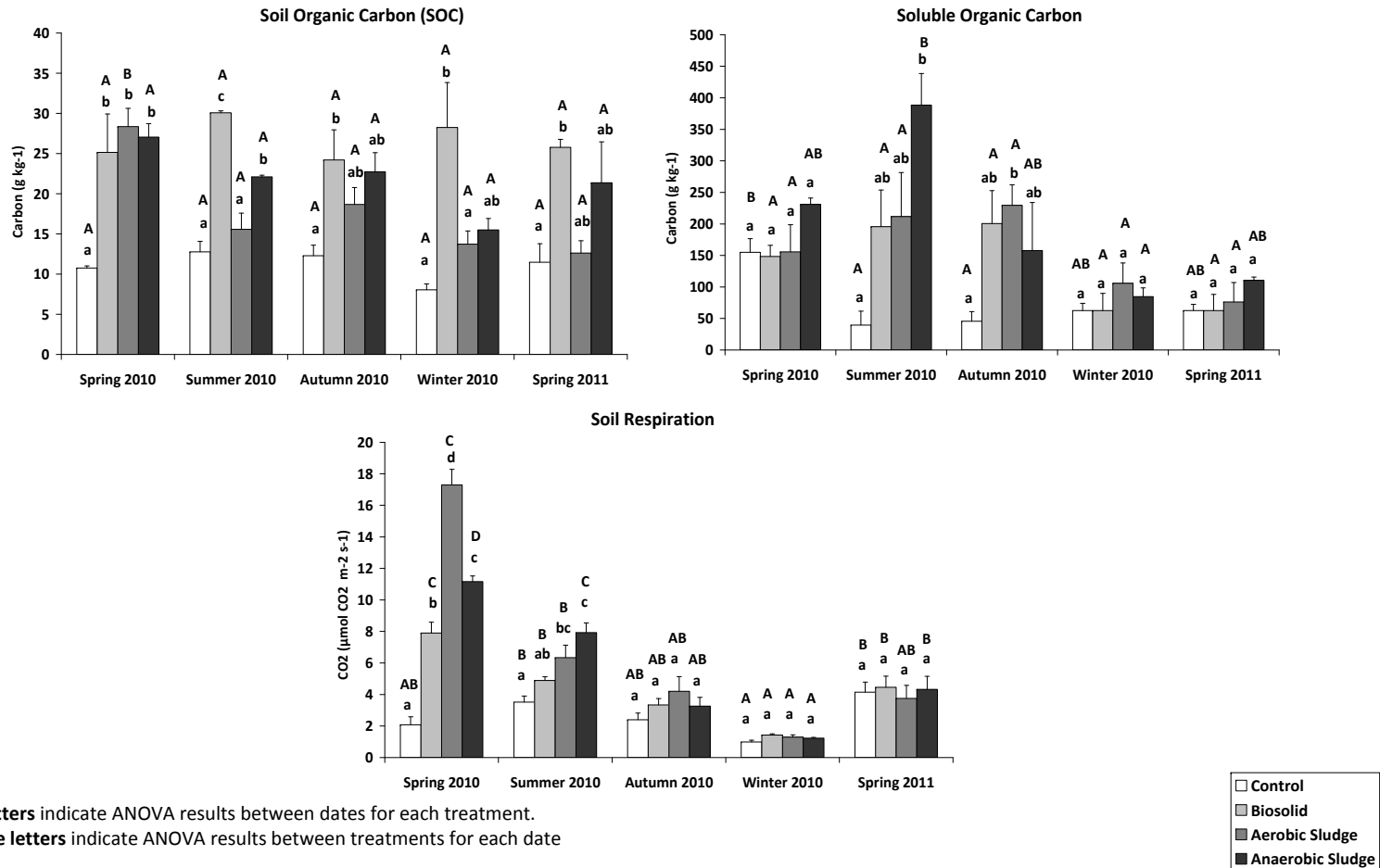
The addition of amendments interrupted the respiratory pattern of untreated soil, producing a change in the CO<sub>2</sub> emission model. After the initial increase in soil respiration associated to organic addition in the spring, there was a drastic reduction three months later in summer, when the control plots reached their maximum associated to the highest temperatures and lowest soil moistures. Six months after the 9 amendment, no significant differences were observed in CO<sub>2</sub> fluxes between treatments, with the lowest level of soil respiration attained in winter, again without significant differences for any of them.

AE-treated soils showed the highest decrease in soil respiration rate in comparison with other treatments. Hernández-Apaolaza et al. (2000) indicate that polymerized amendment applications have less influence on the initial respiratory activity than other, more recent, OM. The plots treated with AN and MSWC followed a similar CO<sub>2</sub> pattern, although for both the initial burst and its decay were significantly more moderate than in AE plots.

The differences between the behaviour of the CO<sub>2</sub> emissions induced by MSWC, AE and AN amendment can be partially explained by their chemical composition and biodegradability. The rate of OM decomposition in the field after organic inputs is not only a function of environmental conditions but also of the initial composition of the sludge, which is influenced by its source and the treatment process (Smith et al., 2008). Sewage sludge composition depends on the digestion process. AE digested sludges often have higher nitrogen contents than their AN counterparts. The nature of the organic C also differs between AE and AN digested sludges (Merrington et al., 2003). The composition of the OM in sewage sludge is variable but it is usually richer in alkyl C than SOM. Sludge digestion decreases sludge total C content, and AN digestion removes much of its alkyl C (Smith et al., 2008). The presence or absence of these alkyl C-rich domains in AE or AN digested sludges could explain the contrasting behaviour of these two sludge types. The ready degradability of the alkyl C-rich material could explain higher rates of microbial activity –and hence CO<sub>2</sub> emissions– in soils amended with AE digested sludge when compared to soils amended with AN digested sludge (Doelsch et al., 2009).

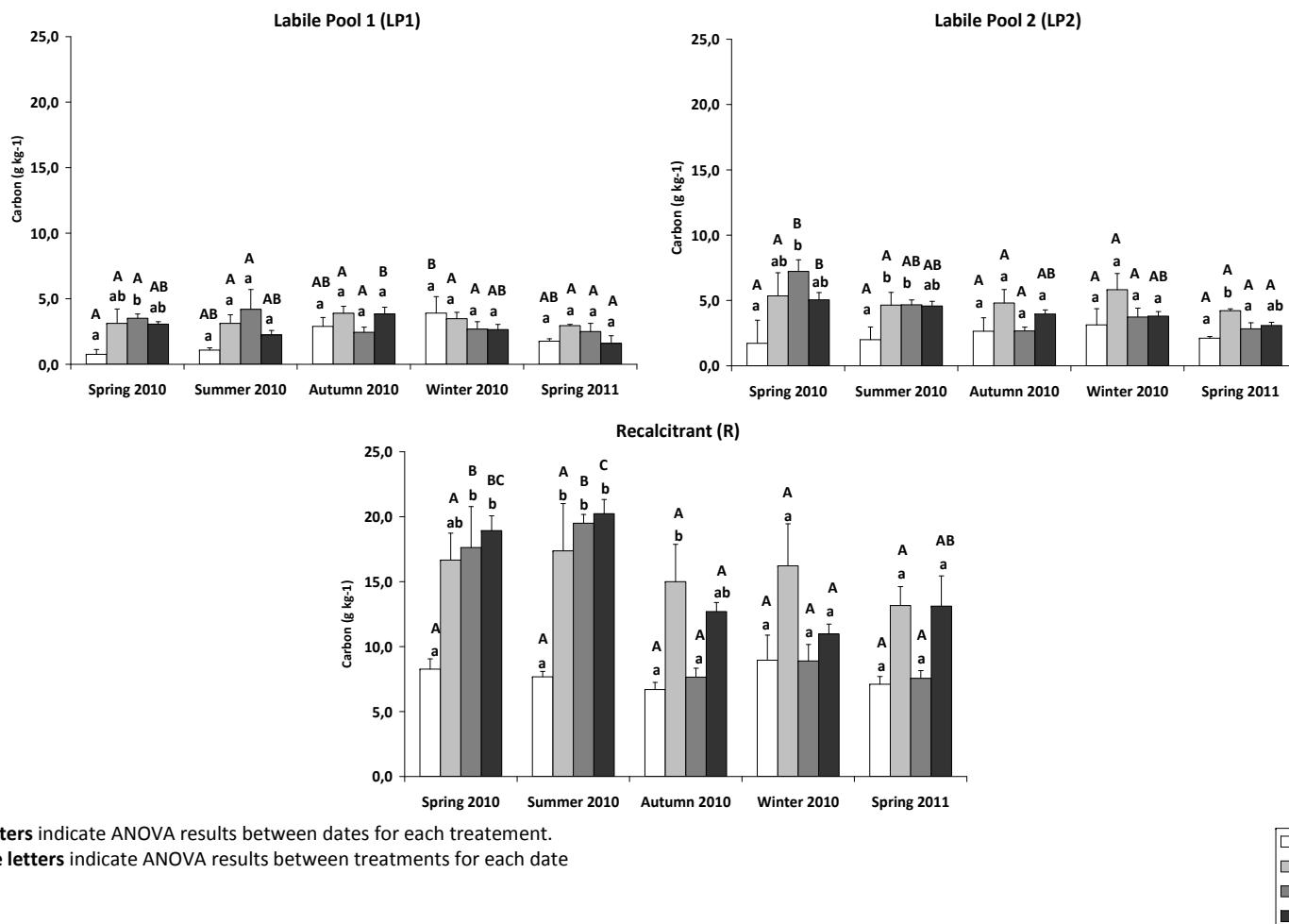
The different organic carbon fractions significantly increased after the application of sludge. Differences could be seen in the type of carbon contributed by each

amendment. After application, AE contributed more labile forms than other treatments, as a percentage of the total, similar to the results of Fernandez et al. (2007a). AN provided a greater amount of recalcitrant forms. Finally, the MSWC contributed less in total organic carbon and therefore less in all fractions, although as in AN sludge, the relevance of recalcitrant forms was higher than in the AE amendment.

Figure 4.2.2 Soil organic carbon and CO<sub>2</sub> emissions

In labile forms (Fig 4.2.3), the differences between treatments disappeared after a short time. Pedra et al. (2007) indicate that organic applications produce a higher C labile pool, but that the differences decrease faster because of rapid mineralization processes. In the LP1 they disappeared after the first sampling, and in the LP2 they disappeared in the third sampling for AE and MSWC treatments. Although in the latter we again observed significant differences in the one year sampling, where the MSWC-treated soil had significantly higher values than other treatments. In general, the application of organic amendments generated a short-term increase in labile forms. After application, the labile forms increased more in AE than in AN-amended soils, despite the greater presence of easily biodegradable compounds in AE sludge (Fernández et al., 2007a). In R pools (Fig. 4.2.3) differences remained for up to 3 months in the case of AE and AN amended soils and up to 6 months in the case of MSWC treatment.

Figure 4.2.3 Soil organic carbon fractions





The decomposition of residue in soils involves the mineralization of the labile C fractions by decomposer microorganisms, resulting in the formation of microbial by-products and the accumulation of recalcitrant organic compounds which incorporate the stable soil organic carbon (Jacinthe et al., 2002). In our data, the baseline data showed an increasing trend in most labile forms (LP1) in autumn and winter, where microbial activity is reduced by temperature (as in the results of Bol et al., 2003) and/or moisture. Bol et al (2003) found that OM pools respond in differing ways to temperature variation, and mineralization of recalcitrant C pool was higher as temperature increased. Except for untreated soils, this effect was observed only in AN sludge-treated soils. In fact there was a statistical difference between dates. In the other two forms (LP2 and R) no significant seasonal variations were observed in the control, and only soil treated with both type of sludge showed a downward trend, being more evident in R pool. In general, municipal solid waste compost-treated soils had a stable tendency and, although they retained the behaviour seen in the controls, they did so in a less pronounced way, and the differences between dates disappeared. Soils treated with sludge –both AE and AN– underwent a reduction in most polymerized forms of carbon (LP2 and R) over time.

The application of the amendments originated a significant increase in soluble OC values (Fig. 4.2.2). This effect has been observed by Pascual et al. (1998) and Franco-Otero et al. (2011). In the second sampling, the control level fell substantially and remained more or less constant over time; no statistical differences between dates were found. In the amended soils the soluble carbon content significantly increased in the summer sampling. The AN sludge-treated soils showed greater differences in soluble carbon content, in agreement with the results of Pascual et al. (1998). Ros et al. (2003) explain this effect due to the presence of carbohydrates. Over time, the differences with the baseline are reduced, until after nine months no significant differences could be seen. The decrease can be explained by mineralization processes (Ros et al., 2003). Furthermore, this reduction was significant only in the case of AN sludge amendments.

#### 4.2.4.4 *CO<sub>2</sub> emissions and soil properties*

A principal component analysis (PCA) was carried out in order to determine the main factors relating to the evolution of SOM regarding the type of treatment. 66% of the

variance is extracted in the two main components (Table 4.2.3). The first component showed a strong relationship between SOM (including mineralization, total amount of organic carbon and different forms of carbon) and pH values. The highest availability to SOM assumed the highest mineralization rates and the lowest values of pH. These data support the observation that the use of SOM by the microbial populations implies the generation of protons which are responsible for the solubilization of calcium carbonate from the soil matrix, and consequently for the decrease in pH values. This is a common trend in carbonated soils under the Mediterranean climate type (Hemmat et al., 2010). These general results must be qualified, since chemical analysis shows that due to its composition, AN sludge had the most significant influence on soil chemistry. AN produced the largest decreases in pH, resulting in a greater reduction in carbonates and bicarbonates, and higher values of EC. The MSWC had a lower influence on these variables, while AE sludge had a significant influence, although less than AN sludge.

Table 4.2.3 Principal Component Analysis results

Component	Eigenvalue	% Variance	Cumulative percentage	Variable	PC1	PC2
1	4,15	51,91	51,91	SOC	0,401	0,076
2	1,18	14,77	66,68	CO <sub>2</sub>	0,302	-0,375
3	0,89	11,10	77,78	HCO <sub>3</sub>	-0,283	0,299
4	0,58	7,25	85,03	LP1	0,254	0,669
5	0,49	6,15	91,18	LP2	0,389	0,392
				pH	-0,406	0,132
				R	0,430	0,043
				C Soluble	0,318	-0,378

In order to analyse the statistical relationships between soil respiration and the use of different organic amendments we carried out a multiple regression analysis. We found some clear trends:

- The application of amendments reduced the influence of temperature on soil respiration. The high OM content made soil moisture the most relevant environmental factor in explaining the evolution of CO<sub>2</sub> emission rates. Although there was no clear trend in the use of the different types of SOM, soil respiration is closely related to the use of soluble carbon. In fact, soluble carbon is the first fraction used by the microbial population, and where the immediate effects of the

microorganisms can be studied (Van Veen et al., 1985). There appears to be a relationship with the use of the rapid available fraction of the SOM (Flavel et al., 2005). This reinforces the priming effect proposed by Kuzyakov (2006).

- In control plots, respiration rates were related with temperature, recalcitrant carbon and pH ( $r^2 = 0.516$ ). The importance of recalcitrant carbon in the percentage explained proved that this carbon pool and its characteristics must be taken into account when analyzing soil respiration. In fact, according to Chen (2010), topsoil carbon storage is an important determinant of annual soil respiration in croplands and grasslands.
- The OM provided by the addition of MSWC followed a more stable evolution, with lower rates of respiration and constant organic carbon values. In this case, CO<sub>2</sub> emission rates were related with soil moisture and hydrogen carbonate ( $r^2 = 0.574$ ). The importance of hydrogen carbonate may indicate the influence of inorganic carbon on soil respiration. Bertrand et al (2007) state that in calcareous amended soils, 73% of respiration is due to processes related to organic carbon, while 27% is explained by dilution of carbonates due to pH decrease. In soils with a pH of around 7 (non calcareous soils), the share of CO<sub>2</sub> due to the dilution of carbonates rises to 35%. The author indicates that the importance of carbonate content cannot be dismissed when explaining respiration rates in carbonate soils.
- AE- and AN- amended soils presented similar behaviour. Soil respiration showed a high statistical relationship with soil moisture and a specific type of SOM. The OM provided by the AE sludge underwent more intense mineralization processes. Thus, these plots showed the highest respiration rates measured in the first sampling and a rapid reduction of organic carbon values. Hernández-Apaolaza (2000) explains this by the lower polymerization of its components, reflected in the importance of labile fractions in relation to the other amendments. Dumale et al. (2011) showed that only labile C forms were involved in short-term CO<sub>2</sub> evolution from soils. The OM provided by AN sludge undergoes a slower evolution, with intermediate rates of CO<sub>2</sub> emissions, although more prolonged in time, with a gradual decrease of organic carbon values. Thus in the case of soil amended with AN sludge, soil respiration was related to recalcitrant and labile 2 carbon pools ( $r^2=0.501$ ), while in soils treated with AE sludge soil respiration was

related to labile 1 and 2 carbon pools ( $r^2=0.621$ ). Differences between these treatments can be attributed to the different origin of the SOM. Therefore the effect of stabilization techniques on organic wastes could improve the retention of organic C in soil after the amendment (Dere and Stehouwer, 2011).

#### **4.2.5 Conclusions**

The evolution of SOM after the application of organic amendments depends on the chemical composition of the inputs. MSWC, with a high value of recalcitrant fraction, maintain a more stable pattern; AE plots undergo the highest decrease in SOC after the amendment due to the high values of the labile pools; AN plots show an intermediate behaviour.

Organic amendments and climatic features have a significant effect on annual respiration rates. The type of treatment contributes differently to seasonal CO<sub>2</sub> fluxes. The greatest effect is associated to AE treatment, followed by AN and MSWC.

On calcareous Mediterranean soils the addition of organic input implies an initial decrease in pH and hydrogen carbonate values. Calcium carbonate values decrease after AE and AN treatments, and increase after MSWC input due to its chemical composition. Therefore applications of organic amendments in these soils modify the inorganic carbon pools. Further studies should be carried out in order to clarify this issue.

As SOM evolution is decided by the kind of amendment used, this is an important factor to take into account in the decision-making process with regard to agricultural policy.

**Acknowledgements.** This work is supported by a grant from the Spanish Ministry of the Environment and Rural and Marine Affairs (MMA0022/PC08/3-04.2). We would like to thank all the employees of the La Isla experimental station (IMIDRA) for their support, and especially Dr. Cristina Rubio. We also want to thank Dr. Jose Ramon Quintana his help in the statistical analysis and Ms Prudence Brooke-Turner for the revision of the English version of the manuscript. We are members of the FITOSOL Research group.

## **Evaluando la influencia del clima mediterráneo en la respiración del suelo agrícola a través de escalas temporales**



**De este capítulo se ha derivado la publicación:**

*“Assessing the influence of Mediterranean climate on an agricultural  
soil respiration across temporal scales”*

González-Ubierna, S., Cruz, M.T., and Casermeiro, M.A.

Enviado a Soil Biology and Biochemisrty



### **4.3 Evaluando la influencia del clima mediterráneo en la respiración del suelo agrícola a través de escalas temporales**

#### **4.3.1 Resumen**

El presente estudio tiene como objetivo investigar la evolución de la respiración de un suelo semiárido mediterráneo en un agroecosistema, evaluando la influencia de los factores climáticos del suelo (temperatura, humedad y pulsos de precipitación) en la respiración del suelo a través de tres escalas temporales (anual, estacional y diaria). El área de estudio es un sistema agrícola en el área metropolitana de Madrid. Se midieron la temperatura y humedad del suelo, temperatura y humedad en la superficie del suelo y pulsos de precipitación, tomando muestras de la respiración del suelo con un analizador de gases mediante infrarrojos. Se realizaron análisis de varianza (ANOVA), análisis de regresión múltiple y uso de modelos empíricos para el estudio de las relaciones entre estos factores. El patrón de respiración del suelo anual relacionado con los factores climáticos encajó bien con un modelo tipo Gauss. La máxima respiración del suelo se encontró en el 17% de contenido de agua del suelo y a 20°C de temperatura del suelo. Hemos encontrado problemas con el uso del coeficiente  $Q_{10}$  constante, debido a su alta relación con los valores de humedad del suelo. Hemos desarrollado una modificación del modelo propuesto por Martin y Bolstad (2009) incluyendo el  $RW_i$ , con el fin de representar las relaciones entre la respiración del suelo y todas las variables climáticas, obteniendo un mejor coeficiente de determinación que el original. La respiración del suelo mostró grandes variaciones estacionales y diarias, relacionadas principalmente con los factores ambientales (temperatura y humedad). La temperatura del suelo manejó la variabilidad de la respiración del suelo durante el verano, el otoño y el invierno, mientras que en primavera el conductor fué el contenido de agua del suelo. Los resultados mostraron que, bajo el tipo de clima mediterráneo, en suelos agrícolas calcáreos, las emisiones de  $CO_2$  están controladas principalmente por las variaciones de temperatura, mientras que la humedad modula la respuesta.

### **Assessing the influence of Mediterranean climate on an agricultural soil respiration across temporal scales**

#### ***Abstract***

The present study aims to investigate the evolution of soil respiration in a semiarid Mediterranean agro-ecosystem and the relations with soil climatic factors (temperature, moisture and precipitation pulses) across three temporal scales (daily, seasonal and annual). The study area was a historical agricultural land near Madrid metropolitan area. We measured soil temperature, soil moisture, soil surface temperature, humidity, rainfall events and *in situ* soil respiration. We performed ANOVA, multiple regression analysis and empirical models in order to study the relations between these factors at three scales. The annual soil respiration pattern related to climatic factors fitted well with a Gaussian model. The maximum soil respiration was found at 17% of soil water content and 20°C of soil temperature. We encountered problems with the use of the constant  $Q_{10}$  coefficient, due to its high relationship with soil moisture. We developed a modification of the model proposed by Martin and Bolstad (2009) including the rewetting process, in order to represent the relationships between soil respiration and all the climate variables, obtaining a better coefficient of determination. Soil respiration showed high seasonal and daily variations, related to key environmental factors (temperature and moisture). The results showed that under the Mediterranean climate type, in calcareous agricultural soils, CO<sub>2</sub> emissions are mainly controlled by temperature variations, while moisture modulates this response. The interaction soil temperature-moisture seems to be a major factor over soil respiration in Mediterranean soils.



#### **4.3.2 Introduction**

The Mediterranean climate type occupies about 2.75 million km<sup>2</sup> of land (Rambal, 2001), and will be one of the most sensitive regions in the global climate change scenario. The outlook for Mediterranean soils in the near future (30 years) suggests an increase of 1°C warming and 15-20% lower soil water availability (IPCC, 2001). In these water-limited soils, respiration is one of the main processes of carbon loss (Conant et al., 2000), and these changes will alter the whole of the soil carbon cycle. Mediterranean type of climate has the particularity of the high variability of their factors (temperature and humidity) at all temporal scales (annual, seasonal and daily). Because of that, soil respiration and climatic factors relationships under this type of climate could be different than founded in other areas.

Soil respiration is influenced by soil temperature and moisture variations, and there are many works in the analysis of the single influence of these factors on soil respiration (Jun et al., 2008; Martin and Bolstad, 2009). Many authors have focused on the importance of soil moisture on the soil respiration using empirical models (Davidson et al., 2000). Nevertheless, despite soil respiration is limited by low and high soil water contents (Balogh et al., 2011), there is no consensus on how to explain these relationships (Li et al., 2013). Also, a large body of research has focused on the temperature sensitivity of soil respiration, using empirical models in order to study these relations (Li, 2000; Lloyd and Taylor, 1994). Most of these studies have assumed linear or linealizable relations (Jia et al., 2006); in this regard, the  $Q_{10}$  coefficient has been developed in order to reflect the sensitivity of soil respiration related to soil temperature (Chang et al., 2012). However, as for soil moisture, there is no agreement as to the explanation for the relationship between soil temperature and soil respiration (Subke and Bahn, 2010); and the use of linear regressions and its derived constant  $Q_{10}$  to explain soil respiration and temperature relations are in question (Xu and Qi, 2001). In this sense, Lellei-Kovács et al. (2011) showed that the relationship between soil respiration and soil temperature varies according to moisture thresholds. These relations and effects had not been deeply tested in climates where temperature and humidity highly vary at the same time (i.e. Mediterranean ones) (Conant, 2010; Scholes et al., 2009). Therefore, in high variability

climates should be making an effort to understanding how these variables interact and how they affect soil respiration process.

Some authors (Davidson and Janssens, 2006; Reichstein et al., 2002) suggests that under high variable climates, soil respiration and soil climatic factors relations cannot be adequately described by a simple univariate soil respiration function, like in template areas. Furthermore, in arid and semiarid soils, some authors have indicated that soil respiration appears to be controlled by precipitation pulses (Curiel Yuste et al., 2003) due to rewetting processes or the “Birch effect” (Navarro-García et al., 2012). However, it is still unclear how to account for the effects of soil water content when modelling the environmental sensitivity of soil respiration (Lellei-Kovács et al., 2011). The study of the factors affecting variations in soil respiration is fundamental to an understanding of the role of soils in climate change and its consequences (Hong-Jian et al., 2008). Moreover, *in situ* data are especially useful in this area due to the shortage of field studies (Thomas et al., 2011). Despite all these special features, Mediterranean soils and ecosystems have received little attention from soil respiration research networks (Valentini, 2003). Furthermore, due to its particular importance, its sensitivity to the processes of global change, and the limited scientific attention it has received, soil respiration in Mediterranean areas should be studied in depth.

The main objective of this work is to investigate how affect the soil climatic factors to soil respiration under the specific conditions of a semiarid Mediterranean agro-ecosystem. We studied annual, seasonal and daily variations in soil respiration, evaluating the incidence of climate variables across these three temporal scales. Our aim is to contribute to the general knowledge of soil C evolution under the Mediterranean climate type.

#### **4.3.3 Material and methods**

##### **4.3.3.1 Study area**

We selected for our study an experimental agricultural facility located in the centre of the Iberian Peninsula, near the city of Arganda del Rey in the southeast of the Madrid Region, Spain (Datum ED-50, UTM 30T: X: 457673.84, Y: 4462824.553). The site has a typical

Mediterranean pluviseasonal-oceanic bioclimate, and lies on a dry meso-Mediterranean belt ([www.globalbioclimatics.org](http://www.globalbioclimatics.org)). The climate is characterised by distinct seasonal and daily contrasts. In our year of experimentation (2010-2011), the average annual rainfall was 430 mm, with a marked minimum in summer (50 mm). The average annual temperature was 19°C; with maximums in summer that often exceed 35°C. The mean atmospheric humidity was 51%, with maximums in winter of 90%. Both soil temperature (Ts) and moisture (Ms) also showed clear seasonal variations, with the maximum temperatures coinciding with minimum water contents in summer, and with higher moistures and lower temperatures in winter. The annual mean Ts was 15.5°C and mean Ms was 0.173m<sup>3</sup>m<sup>-3</sup>. Daily variations in Ts and Ms were significant, with a maximum difference of 0.98°C in October and minimum of 0.07°C in January. Therefore, the site had a typical high variability climate of Mediterranean conditions.

Geomorphologically, the area lies on the former alluvial terrace on the left bank of the Jarama river basin on quaternary calcareous sediments with high carbonate values. The alluvial sediments have caused an ancient calcareous Fluvisol to have its present Anthrosol characteristics (FAO, 2006); it has also been subjected to a strong human influence due to its historical use for agriculture. Morphologically, an Ap horizon (0-40 cm) can be distinguished with properties similar to an Anthragric horizon, with organic carbon content close to 1%, a moderately basic pH (pH = 8), low surface stoniness and high permeability; and a subsurface horizon (40-80cm) with the typical characteristics of agricultural land, showing subsurface compaction due to the intensive use of farm machinery.

#### 4.3.3.2 *Experimental plot and sampling*

We designed three representative soil plots (10x15 m each) randomly distributed along the site for soil respiration monitoring. Three PVC cylinders 20 cm in diameter were randomly installed on each plot for Rs sampling, to a depth of 5cm. Soil respiration (Rs) was measured in situ, using an infrared gas analyser (model Li-COR 8100), with a chamber with a diameter of 20 cm, a standard methodology for this type of studies (Savage and Davidson, 2003). Before the CO<sub>2</sub> measurements, vegetation was removed in respiration chambers in order to eliminate the plant respiration effect. In order to monitor the intra-

annual and intra-day variations in soil CO<sub>2</sub> emission rates, soil respiration data were taken fortnightly over one year and a month (from 10/05/2010 to 30/06/2011), with the measurements were making at three times of day: at dawn (7 am), at noon (12 pm) and in the evening (7 pm).

Due to critical relevance of climatic factors on soil respiration, we also monitored Ts and Ms in the first 30 centimetres of soil, using a tensiometer fitted with a battery for a Jet Fill 2725 blood pressure tensiometer equipped with a thermometer (Soil Moisture Equipment Corp.). Hourly data on atmospheric humidity (Ha) and soil surface temperature (Ta) were obtained from the weather station in Arganda del Rey (Code: 3182Y), located at the experimental site (data provided by the National Meteorological Agency, AEMET). All data were collected at the same time that CO<sub>2</sub> measures, through one year after plot construction. Finally, soil water retention capacity was calculated following Brady and Weil (1999).

We designed one auxiliary experiment, after the end of the year of monitoring, in order to study the relationship between Rs and rewetting process (Birch effect). We artificially rewetted the Rs cylinders on all the agricultural soil plots at three intensities (25%, 50% and 75% of soil water retention capacity). We measured soil CO<sub>2</sub> emissions before and one hour after rewetting. For this experiment, we selected a summer day, with medium Ms and high Ts.

In order to include this rewetting process in data analysis, we calculated a rewetting index (RWi) following Almagro et al. (2009), the index expression is:

$$RWi = P/t$$

Where RWi is the rewetting index, P is precipitation (mm), and t is time elapsed between rainfall event measurement (days).

##### 4.3.3.3 Data analysis

We analyzed our data at three temporal scales, with different statistical analysis approximations. For the study of annual relationships between Rs and climatic factors we applied empirical models, since this scale collects all the range of climatic variability.

Following Lellei-Kovács et al. (2011) we tested the Lloyd and Taylor model, which reflects a non-linear relationship between  $R_s$  and  $T_s$  or  $M_s$ ; the exponential model, which assumed linear relationships between soil climate and respiration; and Gaussian approximation, that presumes an optimal  $T_s$  or  $M_s$  for  $R_s$ . These models represent three different effects of increasing  $T_s$  or  $M_s$  in  $R_s$ . Also, a non-parametric correlation analysis (Spearman's Rho) was performed.

$R_s = \exp (b_1 + b_2 T_s)$	Exponential equation
$R_s = \exp [(b_1 - b_2)/(T_s - b_3)]$	Lloyd and Taylor model
$R_s = \exp (b_1 + b_2 T_s + b_3 T_s^2)$	Gaussian model

We calculated the  $Q_{10}$  coefficient, which expresses the annual temperature sensitivity of  $R_s$ , and reflects the difference in the  $R_s$  rate with a 10°C increase in  $T_s$  (Chang et al., 2012). We calculated  $Q_{10}$  derived from an exponential model (Jenkins and Adams, 2011), following the equations:

$$R_s = a e^{b T_s} \rightarrow Q_{10} = e^{10b}$$

Where  $a$  and  $b$  are a fitted parameter from the exponential model.

In order to study the climatic factors dependence of annual  $R_s$  under different  $M_s$  and  $T_s$  regimes, we analyzed the relationships between  $R_s$  and climatic factors under different thresholds. According to soil climatic data distribution, we divided our  $M_s$  data into three groups: low moisture ( $<0.1 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ ), medium moisture ( $0.1 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3} - 0.2 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ ) and high moisture ( $>0.2 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ ). The division was made according to the histogram distribution graph of our  $M_s$  data. Also, we divided our  $T_s$  data into three groups: low  $T_s$  ( $<10^\circ\text{C}$ ), medium  $T_s$  ( $10^\circ\text{C} - 16^\circ\text{C}$ ) and high  $T_s$  ( $>16^\circ\text{C}$ ), in order to study the  $M_s$  dependence of our  $R_s$  data under different  $T_s$  regimes. In this case we adopted  $16^\circ\text{C}$  as threshold, following the results of Almagro et al. (2009).

We also study the combination effect of the climatic variables on  $R_s$ , we applied the following linear and non-linear equations to express the relationships between  $R_s$ ,  $T_s$

and Ms. These models have appeared in the recent Rs literature. Also, in order to include rewetting process, we developed a modification of Martin and Bolstad model.

$$Rs = b_1 \exp(b_2 Ts) Ms^{b_3} \text{ (Jun et al. 2008 \& Zhang et al. 2010)}$$

$$Rs = (b_1 Ms + b_2) \exp(b_3 Ms / (b_4 + Ms) + b_5) Ts \text{ (Smith 2005)}$$

$$Rs = -b_1 \exp(b_2 Ts) \exp[0.5(\ln(M/b_3)/b_4)^2] \text{ (Byrne et al. 2005)}$$

$$\ln(Rs) = b_1 + b_2 Ts + b_3 Ts^2 + b_4 Ms + b_5 Ms^2 + b_6 Ts Ms \text{ (Martin and Bolstad 2009)}$$

$$\ln(Rs) = b_1 + b_2 Ts + b_3 Ts^2 + b_4 Ms + b_5 Ms^2 + b_6 Ts Ms + b_7 RWi \text{ (Modified from Martin and Bolstad)}$$

For seasonal and daily scales, in order to analyze the influence of soil climatic conditions on Rs, we conducted a multiple regression analysis, as the empirical models do not work for narrow ranges of Ts and Ms. Also, we carried out an analysis of variance (ANOVA) using the F distribution method, Fisher-Snedecor, with a confidence level of over 95% ( $p < 0.05$ ), and with SPSS v.17 for the Microsoft Windows operating system.

#### **4.3.4 Results**

##### *4.3.4.1 Annual relationship between soil respiration, temperature and soil water content.*

Soil temperature (Ts) showed a positive correlation with soil CO<sub>2</sub> emissions (Table 4.3.1). All three tested models had a good statistical significance ( $p < 0.001$ ), but Gaussian had the best coefficient of determination. Estimation parameters of the models can be seen in Table 4.3.2. The application of Gaussian model to our data showed maximum Rs at 20°C (Figure 4.3.1). The application of this model into the three Ms groups differentiated showed that the best fit was for medium Ms, with maximum Rs at 15°C. In low Ms the model couldn't identify a clear maximum of Rs, while in high Ms the maximum was near 10°C. The Ts dependence of our Rs data was higher at high Ms, where basal Rs was lower, while the highest basal Rs was produced at low Ms. The Q<sub>10</sub> values corroborated this assertion.

**Table 4.3.1 Correlation analysis results**

	Soil Temp.	Soil Surface Temp.	Soil Moisture	Atm. Humidity	RWi
Coefficient	0.523(**)	-0.290(**)	0.668(**)	-0.410(**)	0.129(**)
Sig. (bilateral)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
N	693	540	720	720	720

Soil surface temperature ( $T_a$ ) and  $R_s$  also showed a positive correlation (Table 4.3.1). The application of the models showed the same results than for  $T_s$ , but with higher coefficients of determination (Table 4.3.2). The use of Gaussian model showed maximum  $R_s$  near 30°C of  $T_a$  (Figure 4.3.1). The application of the model into differentiated  $M_s$  groups showed that the fit was better for lower  $M_s$ , with maximum  $R_s$  at 25°C. In medium  $M_s$  we found the maximum close to 22°C, while in high  $M_s$  the model did not reflect a maximum for our data. The calculation of the parameters showed that the  $T_a$  dependence of our  $R_s$  data was higher at medium  $M_s$ . As for  $T_s$ , the highest basal  $R_s$  was produced under low  $M_s$ , while the lowest was sown in high  $M_s$ .

**Table 4.3.2  $Q_{10}$  values and parameters and coefficients of determination of models tested to represent soil temperature and soil surface temperature dependence of soil respiration**

	Soil Temperature				Soil Surface Temperature				$Q_{10}$
	$b1^\dagger$	$b2^\dagger$	$b3^\dagger$	$r^2$	$b1^\dagger$	$b2^\dagger$	$b3^\dagger$	$r^2$	
Exponential equation	-0.863	1.790	-	<b>0.228</b>	0.021	0.369	-	<b>0.347</b>	-
Lloyd and Taylor model	3.513	6.260	0.831	<b>0.371</b>	309.081	309.168	-0.037	<b>0.289</b>	-
Gaussian model	-1.414	10.162	-24.828	<b>0.401</b>	-1.224	6.088	-10.642	<b>0.441</b>	-
$M_s^+$ <0.1 m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup>	-0.888	0.715	6.812	<b>0.385</b>	-1.054	3.930	-4.759	<b>0.613</b>	1.284
0.1-0.2 m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup>	-1.576	14.439	-41.156	<b>0.528</b>	-1.162	6.822	-13.775	<b>0.441</b>	1.221
>0.2 m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup>	-2.088	26.773	-116.451	<b>0.334</b>	-1.209	2.236	15.024	<b>0.367</b>	1.859

<sup>†</sup> Application of Gaussian model to soil moisture groups

<sup>‡</sup> Gaussian model parameters estimation

Soil moisture (Ms) had a negative correlation with soil respiration (Table 4.3.1). However, a different pattern emerged in this relation: the relationship between Rs and Ms was negative when Ts were under 16°C, and positive above this value. In this case, the application of the models showed low coefficients of determination, and only Gaussian model had an acceptable value (Table 4.3.3). We found marked maximum in Rs at 0.15m<sup>3</sup>m<sup>-3</sup> of soil water content (Figure 4.3.1). For Ts groups, the fit was better in medium Ts, while at low Ts the fit was not good. As expected, basal CO<sub>2</sub> emissions were high at high Ts. The calculation of the parameters showed that the Ms dependence of our Rs data was higher at medium Ts.

**Table 4.3.3 Parameters and coefficients of determination of models tested to represent soil moisture and rewetting index (RWi) dependence of soil respiration. For RWi only appear the results obtained in RWi experiment**

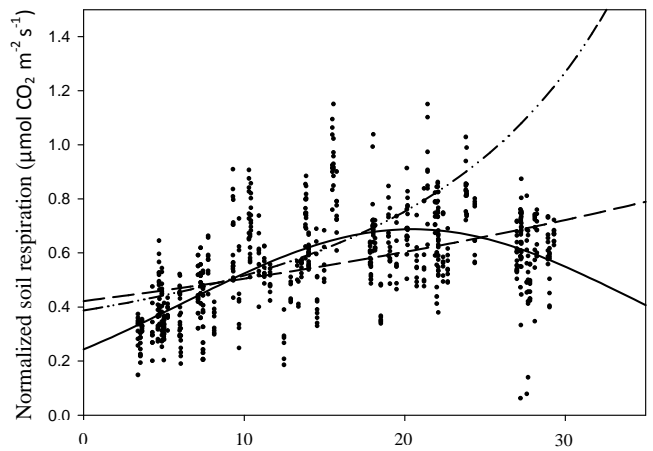
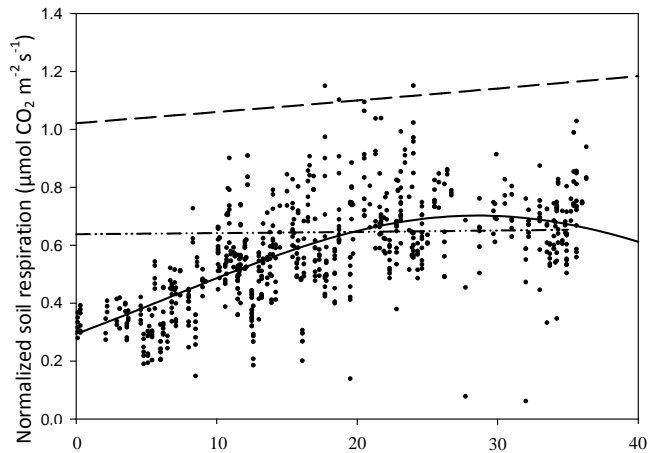
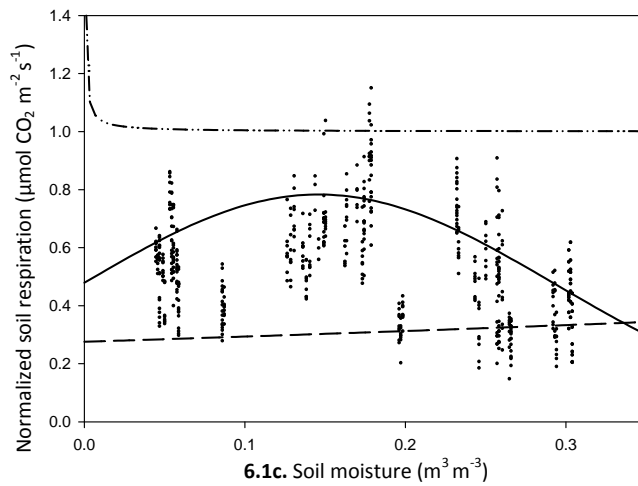
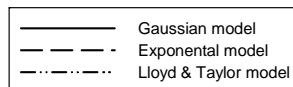
		Soil Moisture				RWi			
		b1 <sup>†</sup>	b2 <sup>†</sup>	b3 <sup>†</sup>	r <sup>2</sup>	b1 <sup>†</sup>	b2 <sup>†</sup>	b3 <sup>†</sup>	r <sup>2</sup>
Exponential equation		-1.288	0.629	-	<b>0.099</b>	-	-	-	-
Lloyd & Taylor model		44.020	-43.157	-9.663	<b>0.062</b>	-	-	-	-
Gaussian model		-0.736	6.734	-23.061	<b>0.229</b>	0.660	3.834	-3.802	<b>0.864</b>
Ts*	<10°C	-0.422	-3.077	7.592	<b>0.022</b>	-	-	-	-
	10°C-16°C	-2.581	9.684	-30.327	<b>0.349</b>	-	-	-	-
	>16°C	0.181	-16.241	68.354	<b>0.324</b>	-	-	-	-

<sup>†</sup> Application of Gaussian model to soil moisture groups

\* Gaussian model parameters estimation



Figure 4.3.1. Models tested for environmental factors dependent on soil respiration

6.1a. Soil temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )6.1b. Soil surface temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )6.1c. Soil moisture ( $\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$ )

Atmospheric humidity (Ha) also had a negative correlation with soil respiration (Table 4.3.1), with the same pattern that Ms. However, in this case, the fit was not good for all the models tested (Data not shown).

The RWi showed a positive correlation with Rs (Table 4.3.1). We found that a negative relation between RWi and Rs occurred with low Ms, whereas the relation was positive when soil was wet. The application of the models didn't show a good fit, with very low coefficients of determination (Data not shown). However, the application of the Gaussian model to the additional RWi experiment data showed high coefficients of determination. In this case, the model reflected the high positive influence of RWi on Rs (Table 4.3.3).

Finally, we tested some models that reflect the relation between Rs and the three variables analysed (temperature, moisture and RWi). All of them showed a statistical significance ( $p < 0.001$ ), but our modification of Martin and Bolstad (2009) model had the best fit for our data (estimation parameters of the models can be seen in Table 4.3.4). The model reflects the prominent influence of Ts on soil CO<sub>2</sub> emissions, which was higher than Ms. As expected, the inclusion of RWi in the model notably reduced the influence of Ms on Rs, but greatly increased the importance of Ts and Ms interaction.

**Table 4.3.4 Parameters and coefficients of determination of soil temperature, soil moisture and rewetting index (RWi) dependence models**

	<b>b1<sup>‡</sup></b>	<b>b2<sup>‡</sup></b>	<b>b3<sup>‡</sup></b>	<b>b4<sup>‡</sup></b>	<b>b5<sup>‡</sup></b>	<b>b6<sup>‡</sup></b>	<b>b7<sup>‡</sup></b>	<b>r<sup>2</sup></b>
Byrne	0.336	0.025	$7.513 \cdot 10^{-11}$	38.869	-	-	-	<b>0.265</b>
Smith	-0.175	0.055	-1.192	-0.691	-0.520	-	-	<b>0.000</b>
Wang/Zhang	7.589	-2.938	0.025	0.014	0.265	-	-	<b>0.265</b>
Martin & Bolstad	-2.470	12.584	-33.108	6.343	-16.757	-6.529	-	<b>0.503</b>
Modified Martin & Bolstad	-1.440	10.907	-35.199	0.137	-3.002	16.321	-0.470	<b>0.574</b>

<sup>‡</sup> Models parameters estimation

#### *4.3.4.2 Seasonal relationship between soil respiration, temperature and soil water content*

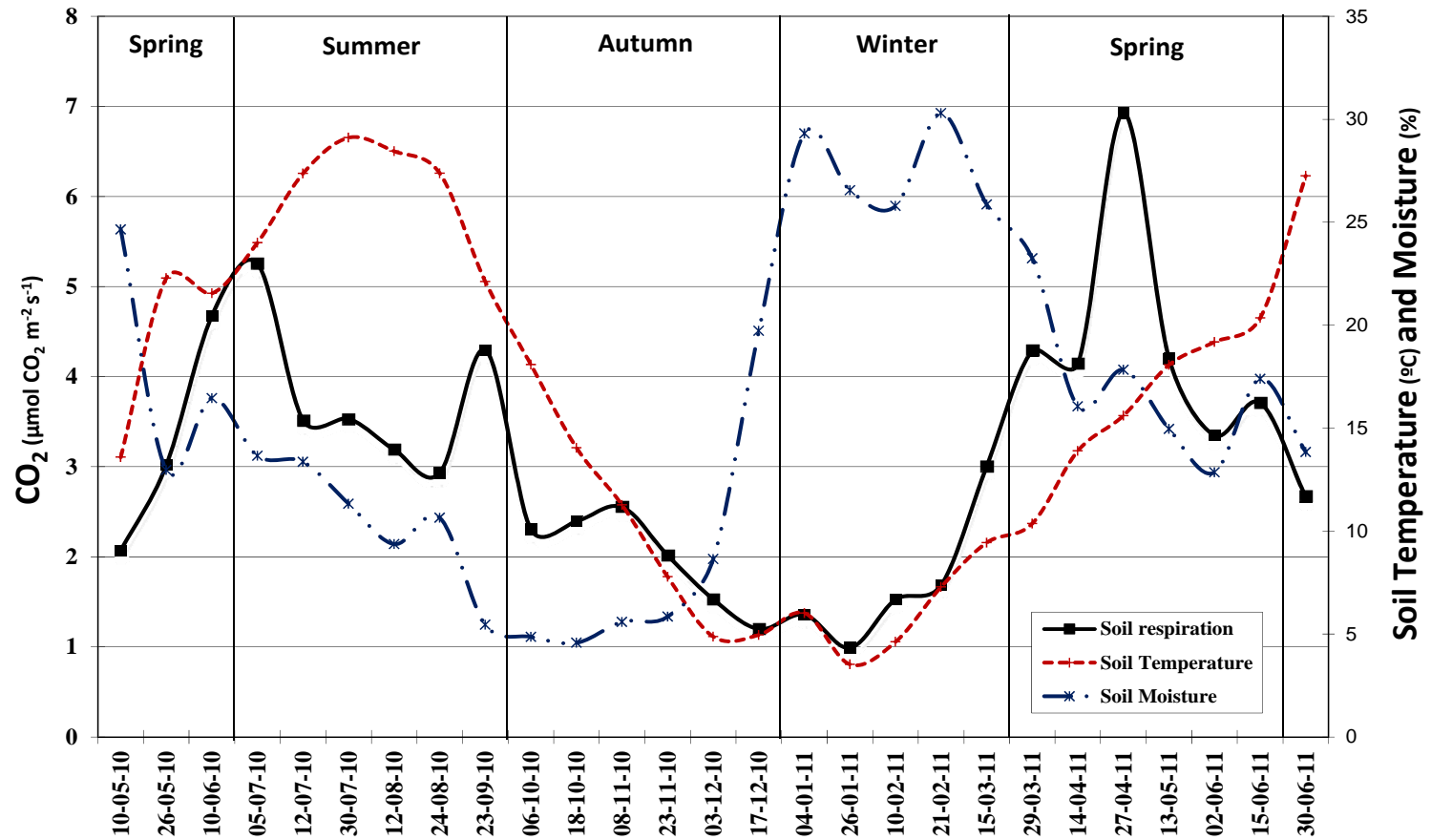
Soil respiration rates ranged from  $0.88 (\pm 0.44)$  to  $6.93 (\pm 1.95) \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  in daily means, and from 0.20 to  $13.14 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  in absolute data (Figure 4.3.2). Soil respiration data showed marked seasonal variations, with the highest Rs rates saw in spring, and with almost all Rs measures being statistically different (ANOVA results not shown). In summer,  $\text{CO}_2$  emissions followed a clear Ms pattern, while in autumn and winter, Rs data appear to follow a Ts decline. We observed an increase in  $\text{CO}_2$  flux in spring, following increases in Ts, with an Rs peak marked by a rainfall event (on 2011/04/27). The lowest  $\text{CO}_2$  emission rates were found in late autumn and early winter, coinciding with lowest Ts (Figure 4.3.2). In fact, the ANOVA analysis showed that Rs was significantly higher in the warmer period (Table 4.3.5).

Table 4.3.5 ANOVA results

		Type III. Sum of squares	df	Mean Square	F	Sig.
ANOVA between periods						
Respiration	Between groups	769,243	3	256,414	113,761	,000
	Within Groups	1634,134	725	2,254		
	Total	2403,376	728			
Soil moisture	Between groups	2,937	3	,979	442,921	,000
	Within Groups	1,205	545	,002		
	Total	4,142	548			
Soil temperature	Between groups	33929,818	3	11309,939	585,578	,000
	Within Groups	14002,751	725	19,314		
	Total	47932,569	728			
ANOVA between daytimes						
Respiration	Between groups	238,333	2	119,167	41,513	,000
	Within Groups	2213,226	771	2,871		
	Total	2451,559	773			
Soil moisture	Between groups	,000	2	,000	,011	,989
	Within Groups	4,852	591	,008		
	Total	4,853	593			
Soil temperature	Between groups	2,367	2	1,183	,018	,982
	Within Groups	49381,277	771	64,048		
	Total	49383,643	773			
ANOVA between daytimes in summer						
Respiration	Between groups	100,734	2	50,367	19,379	,000
	Within Groups	600,384	231	2,599		
	Total	701,118	233			
Soil moisture	Between groups	,000	2	,000	,007	,993
	Within Groups	,498	51	,010		
	Total	,498	53			
Soil temperature	Between groups	5,264	2	2,632	,123	,884
	Within Groups	4931,301	231	21,348		
	Total	4936,565	233			

ANOVA between daytimes in autumn						
Respiration	Between groups	21,371	2	10,686	23,573	,000
	Within Groups	72,075	159	,453		
	Total	93,446	161			
Soil moisture	Between groups	,000	2	,000	,015	,985
	Within Groups	,458	159	,003		
	Total	,458	161			
Soil temperature	Between groups	11,523	2	5,762	,243	,785
	Within Groups	3776,851	159	23,754		
	Total	3788,375	161			
ANOVA between daytimes in winter						
Respiration	Between groups	23,819	2	11,910	11,563	,000
	Within Groups	145,226	141	1,030		
	Total	169,045	143			
Soil moisture	Between groups	,001	2	,001	1,621	,201
	Within Groups	,053	141	,000		
	Total	,054	143			
Soil temperature	Between groups	6,548	2	3,274	,788	,457
	Within Groups	585,779	141	4,154		
	Total	592,327	143			
ANOVA between daytimes in spring						
Respiration	Between groups	102,612	2	51,306	16,803	,000
	Within Groups	567,912	186	3,053		
	Total	670,524	188			
Soil moisture	Between groups	,000	2	,000	,065	,937
	Within Groups	,194	186	,001		
	Total	,194	188			
Soil temperature	Between groups	5,038	2	2,519	,100	,905
	Within Groups	4680,446	186	25,164		
	Total	4685,485	188			

Figure 4.3.2 Annual evolution of soil respiration, temperature and moisture



We analysed our data in the four annual seasons, founding that the Ts dependence of Rs ( $Q_{10}$  coefficients) was higher in colder months, especially in winter. All periods were statistically different ( $p < 0.001$ ) in CO<sub>2</sub> emissions, Ts and Ms (Table 4.3.5). This analysis showed significant highest Rs in spring, followed by summer emissions and finally by autumn and winter rates. Regression results (Table 4.3.6) showed that in summer Ha controlled Rs variations, with Ts also having a significant influence. In autumn Ta explained the majority of Rs variability and with Ms and Ts explained more than 50% of it. In winter and spring the analysis showed that soil climate drove Rs. In winter Ts was the main factor, while in spring were Ts and Ms had similar relevance. In these periods RWi also had relevance over Rs variability. The RWi showed different behaviour throughout the experiment: in summer and autumn there was no significant relationship, in spring the correlation with Rs was negative ( $p < 0.001$ ), while in winter this relation was positive ( $p < 0.001$ ).

**Table 4.3.6 Multiple regression analysis and  $Q_{10}$  values for annual periods and daytimes**

		Annual period				Time of day		
		Summer	Autumn	Winter	Spring	Dawn	Noon	Evening
M. Regression	$Q_{10}$	1.174	1.297	2.363	1.083	1.271	1.246	1.246
	Soil Temp.	5.5	1.7	27.3	19.0	-	-	1.3
	Atm. Temp.	-	44.9	5.9	-	38.4	35.8	41.4
	Soil Moist	-	5.4	8.9	20.3	-	-	-
	Atm. Hum.	73.0	-	-	-	-	1.7	-
	RWi	-	-	1.7	1.5	8.5	2.9	-
	$r^2$	<b>0.785</b>	<b>0.520</b>	<b>0.438</b>	<b>0.408</b>	<b>0.463</b>	<b>0.394</b>	<b>0.420</b>

#### 4.3.4.3 Daily relationship between soil respiration, temperature and soil water content

Daily variations in Rs were linked to Ts and Ms variations. The ANOVA results showed that soil CO<sub>2</sub> emissions were significantly lower at dawn than at the other two times of day (noon and evening) in all seasons of the year. Moreover, ANOVA analysis (Table 4.3.5) showed significant differences between the Ts and Ms measured at dawn and at the other two measuring times, with a significantly lower Ts and significantly higher Ms. As expected, the  $Q_{10}$  values for each time of day showed that the measurements taken at

dawn had higher  $T_s$  dependence than at the other two times, although the  $Q_{10}$  values were very similar. We conducted another multiple regression analysis for the times of day (Table 4.3.6), which revealed that at dawn,  $R_s$  variations were related to  $T_a$  and  $RWi$ . At noon only  $T_a$  was related to variability in soil  $CO_2$  emissions. Finally, in the evening only temperature variables were included in the model, with a clearly higher significance of  $T_s$  over  $T_a$ . The ANOVA results showed that in spring and summer, soil respiration was significantly lower in measurements made at dawn than at other times of day, and in cold periods there was a gradation, with measurements made at dawn being significantly lower, and those made at noon significantly higher (Table 4.3.5).

#### **4.3.5 Discussion**

##### *4.3.5.1 Annual relationship between soil respiration, temperature and soil water content*

The coefficient of determination results showed that our modification of the model proposed by Martin and Bolstad (2009) was the best model to explain the influence of temperature, moisture and rewetting index on  $R_s$ . It reflected the great relevance of rewetting processes in  $R_s$ , especially in Mediterranean soils. Also, the application of the model reflects the preponderant effect of  $T_s$  on  $R_s$  data, and the highly importance of  $T_s$  and  $M_s$  interaction over  $R_s$  in Mediterranean soils. That is, in Mediterranean soil  $R_s$  can not be explained by the sum of the single effects of climatic factors, but the interactions between them are crucial to explaining the  $R_s$  variability. As expected, the inclusion of  $RWi$  reduced the relevance of  $M_s$  in the applied model (Table 4). Our results showed that under the Mediterranean climate type, in calcareous agricultural soils,  $CO_2$  emissions are mainly controlled by  $T_s$  variations, while  $M_s$  and  $Rwi$  modulate this response.

Temperature ( $T_s$  and  $T_a$ ) was the main factor which control  $R_s$ , which increased when  $T_s$  rose (Fang and Moncrieff, 2001). The highest variability in  $R_s$  rates was observed in medium  $T_s$  (10°C-16°C); while at a lower  $T_s$  the  $R_s$  rates remained more constant. However, the  $T_s$  dependence of soil  $CO_2$  emissions ( $Q_{10}$  factor) showed a low sensitivity with temperature compared to other studies (Janssens and Pilegaard, 2003), but was closer to studies conducted under Mediterranean conditions (Almagro et al., 2009). Also, we found notably variations in  $Q_{10}$  values, being the highest values with highest values of  $M_s$  ( $>0.2m^3m^{-3}$ ), in accordance with Marañón-Jiménez et al. (2011) for Mediterranean



soils. A constant  $Q_{10}$  is generally used to model the soil carbon cycle, nevertheless our results and those of other authors (Almagro et al., 2009; Xu and Qi, 2001) suggest that the use of a fix value of this index should be revised, especially for high variability environments, such as the Mediterranean. The constant  $Q_{10}$  coefficient calculation derived from linear or linealizable models (i.e. exponential model); however, our results suggested a better fit with non-linealizable models in high variable environments. Our findings indicated that the use of a Gaussian model is more effective than the exponential model in order to represent  $R_s$  and  $T_s$  relationships (Jia et al., 2007; Lellei-Kovács et al., 2011). We found a seasonal variability of the value of this coefficient, related to the influence of the interaction between  $M_s$  and  $T_s$  on  $R_s$  processes. A number of authors have focused on the importance of  $M_s$  thresholds in  $T_s$ - $R_s$  relations (Almagro et al., 2009; Lellei-Kovács et al., 2011). Although we found different behaviors in soil  $T_s$ - $R_s$  relations under different moisture groups, we found no change in the direction of the relation, contrary to the conclusions of Almagro et al. (2009). This was probably due to the fact that our  $M_s$  data did not attain low enough soil water content. Fang and Moncrieff (2001) and Sowerby et al. (2008) showed that only very extreme values limited the effect of  $T_s$  on  $R_s$ . The application of Gaussian model identified the maximum  $R_s$  value, which in our soil was 20°C in deep soil or 30°C in surface soil (figure 1a). However, the  $T_s$  for maximum  $R_s$  varied with soil water contents, being 16°C for medium  $M_s$  and 22°C for high soil water contents. Nevertheless at low  $M_s$  scenarios and due to the inhibition of soil microbial activity (Curiel Yuste et al., 2003; Xu and Qi, 2001), the Gaussian model didn't fit well the Temperature in which  $R_s$  is the maximum. Some authors pointed out an optimal temperature for the microbial decomposition of litter between 20°C (O'Connell, 1990) and 30°C (Thierron and Laudelout, 1996). Agren et al. (1991) indicate that when  $T_s$  are higher than 30°C, the rate of increase in  $R_s$  due to increments in  $T_s$  becomes slower, due to the inhibition of enzymatic or physiological processes (Lellei-Kovács et al., 2011). However, most of the experiments were developed under laboratory conditions, which may explain the differences with our *in situ* experiment.

The significant and negative correlations obtained between soil moisture and  $R_s$  were attributed to the fact that high soil water content impedes  $CO_2$  diffusion in the soil profile (Skopp et al., 1990). However, we found a significant positive relationship between  $R_s$  and  $M_s$  at  $T_s$  over 16°C, following the conclusions of Almagro et al. (2009). Our data

showed highest  $R_s$  at medium  $M_s$ , due to the effect of soil microbial activity and root parameters on  $CO_2$  emissions, which are strongly influenced by the available soil water content (Howard and Howard, 1993). Jia et al. (2006) suggested that when  $M_s$  is low, metabolic activity slightly increases in parallel with the availability of  $M_s$ . Moreover,  $R_s$  variability was also highest at medium soil moistures. Another possible explanation for the decrease in  $CO_2$  emissions with high soil water content may be related with the partial dissolution of  $CO_2$  in the water, transforming this gas into soluble hydrogen carbonate and then washing it out of the soil (Rochette et al., 2004). The influence of  $M_s$  on  $R_s$  is commonly described by simple empirical equations (Jia et al., 2006); however, as well as  $T_s$ , we found a better statistical determination coefficient for the Gaussian model. Luo and Zhou (2006) pointed out the existence of maximum  $R_s$  with  $M_s$  around field capacity, adjusting to Gaussian model approximation. In our experiment, the water retention capacity was 17% and Gaussian model showed the maximum  $R_s$  at 15% of water content, corroborating this assertion. In summary, in this case of study the maximum  $R_s$  was observed at 20°C and 15% moisture.

Another question that should be taken into account is rainfall pulses. In water-limited ecosystems such as the Mediterranean,  $R_s$  may be controlled by a pulsed response to precipitation events (Curiel Yuste et al., 2003; Fernández et al., 2007). Moreover, the “Birch effect” is related to precipitation pulses, and promotes an increase in soil carbon mineralization (Fierer and Schimel, 2002). The rewetting process leads to a cascade of responses that mobilize and metabolize otherwise unavailable soil carbon (Marañón-Jiménez et al., 2011). In this sense, the rewetting index (RWi) has a critical effect on  $R_s$  rates, especially in arid, semiarid or Mediterranean environments (Navarro-García et al., 2012). In our results, RWi has a significant and positive effect on  $R_s$  when soil had medium moisture (10-20% soil water content). When soil had a water content of less than 10% the Birch effect is less evident due to several reasons as: the formation of crust in soil surface after a rainfall event which makes difficult the  $CO_2$  diffusion or the effect related with the dead soil microbial biomass (Bottner et al., 1998).

#### 4.3.5.2 *Seasonal relationship between soil respiration temperature and soil water content*

Rates of CO<sub>2</sub> emissions (Figure 2) were similar to expected in arid and semi-arid soils (Rey et al., 2011). Also, we could see high seasonal variations, related to key environmental factors (temperature and moisture), according to Conant et al. (2000) and Kechavarzi et al. (2010). However, the statistical relationships between the variability in Rs and soil climatic conditions was lower than found by other authors (Fang and Moncrieff, 2001; Qi and Xu, 2001). As expected, different patterns were obtained for the different seasons. In summer, which had the highest temperatures and minimum rainfall, the multiple regression coefficients between Rs and climatic factors were close to the studies cited. In this period, Rs was mainly driven by humidity pattern (Figure 2). Summer rainfalls events seemed to promote Rs peaks, but we couldn't find a statistical relation between them. Our data showed a delay in the response of soil respiration after a rainfall event in summer. Our data showed a delay in the response of soil respiration after a rainfall event in summer which was attributed to a strong seasonal hysteresis (Gaumont-Guay et al., 2006) or because there was a delay time for activating microbial populations. These facts could explain the absence of statistical correlation between RWi and Rs. In autumn and winter, soil CO<sub>2</sub> emissions were significantly lower than in spring and summer, following the Ts decline pattern (Asensio et al., 2007; Rey et al., 2002). We found the minimum Rs in autumn, whereas others studies under Mediterranean conditions (Almagro et al., 2009; Rey et al., 2002) found this minimum in summer, probably because in our experiment the drought period occurred in autumn. In spring, the higher soil water availability and the increased Ts conditioned that the highest Rs values were obtained in this season (Marañón-Jiménez et al., 2011). Also, we found a seasonal variability in Q<sub>10</sub> coefficient, with higher values in autumn and winter, due to lower temperatures, as Conant et al. (2004) pointed out under semiarid soils. Reichstein et al. (2005) suggested that temperature sensitivity is lower when the scope is short-term, due to the fact that seasonal variations may disturb the coefficient value.

Despite the influence of soil water contents in Rs has typically been considered for its negative effect as a limiting factor for microbial activity (Serrano-Ortiz et al., 2007; Sowerby et al., 2008), our data showed that the main effect of soil water content

occurred throughout spring, and had a positive effect on Rs rates (Oyonarte et al., 2012). The influence of Ms on Rs is complex, due to its effect on soil microbiology and on the transport of gasses through the soil profile (Fang and Moncrieff, 1999). The rewetting process and the positive effect of Ms near field capacity could explain our experimental data, as suggested by Zhou et al. (2006). Environmental factors explained around 50% of Rs variability, except in summer when this figure was higher. As suggested by other authors (Correia et al., 2012; Webster et al., 2009), other non-climatic factors such as microbial activity, nutrient bioavailability and soil carbon storage should be taken into account under Mediterranean conditions.

##### *4.3.5.3 Daily relationship between soil respiration temperature and soil water content*

Data showed a marked daily variation in Rs, related to the evolution of Ts and Ms (Shi et al., 2006). Daily variations were mainly controlled by Ts, as Flanagan and Johnson (2005) results. Our data showed a strong pattern in minimum Rs measurements at dawn throughout the year, while the maximum value in Rs varied according to the season. In summer the highest value was normally in the evening, whereas in winter and autumn the maximum was at noon, as the rise in Ts was not enough to cause a decrease in microbial activity (Fang and Moncrieff, 2001).

##### **4.3.6 Conclusions**

Results showed that the effect of the interaction between Ms and Ts over Rs is a key factor in explaining the processes of soil respiration. Since the inclusion of RWi in the modified Gaussian model of Martin and Bolstad showed to be the best in order to reflected the influence of all environmental variables, and particularly the interaction between Ts and Ms, we propose the use of this model in future studies. On annual scale, the use of linear or linealizable models, such their derived constant  $Q_{10}$  coefficient, should be reviewed due to the high variability caused by the highly variations in Ts and soil water content and the relevance of their interaction on Rs. In general, Rs increased when Ts becomes higher; while Ms played a modulator role in Rs and Ts relationships. Rewetting

process showed a major effect on  $R_s$  when soil had medium water contents, with a direct effect on soil  $CO_2$  emissions increase.

The highest soil  $CO_2$  emissions were produced in spring, driven by soil water availability and  $T_s$  increase. In autumn and winter,  $R_s$  values were the lowest, following a downward temperature pattern. Finally, in summer we found unexpectedly high respiration values, closely related to rainfall pulses and controlled by  $T_s$ . Daily variations were also strongly correlated with  $T_s$ , with minimum values of  $R_s$  at dawn, but in this case data not showed  $M_s$  influence on  $R_s$ .

**Acknowledgements.** This work was supported by a grant from the Spanish Ministry of the Environment and Rural and Marine Affairs (MMA0022/PC08/3-04.2). We would like to thank all the employees of the La Isla experimental station (IMIDRA) for their support, and especially Dra. Cristina Rubio. We thank Ms Prudence Brooke-Turner for the revision of the English version of the manuscript, and Ms. Sandra Magro and Dr. Jose Ramon Quintana, for their contribution in the manuscript. We are members of the FITOSOL Research group.



## ¿Cómo influyen los residuos orgánicos biodegradables en las emisiones de CO<sub>2</sub> del suelo? Estudio en un agroecosistema mediterráneo



**De este capítulo se ha derivado la publicación:**

*“How do biodegradable organic residues affect soil CO<sub>2</sub> emissions? Case study of a Mediterranean agro-ecosystem”*

González-Ubierna, S., Cruz, M.T., and Casermeiro, M.A.

Enviado a Waste Management





#### **4.4 ¿Cómo influyen los residuos orgánicos biodegradables en las emisiones de CO<sub>2</sub> del suelo? Estudio en un agroecosistema mediterráneo**

##### **4.4.1 Resumen**

El presente trabajo analiza la evolución de la respiración del suelo ( $R_s$ ) en un agroecosistema semiárido mediterráneo tras de la aplicación de tres residuos biodegradables orgánicos (BOR) diferentes (compost de residuos sólidos urbanos (MSWC), lodos de depuradora de digestión anaeróbica (ANSS) y lodos de depuradora estabilizados aeróbicamente (AESS)). Se ha estudiado como afecta la aplicación de las enmiendas a la relación entre la  $R_s$  y las variables climáticas del suelo. Se ha observado un claro aumento de la  $R_s$  en el corto plazo tras la aplicación, especialmente en los suelos enmendados con AESS. La evolución anual de la  $R_s$  estuvo altamente relacionada con las fracciones de carbono de los BOR aplicados, con el mayor efecto observado en los suelos tratados con AESS en el corto plazo y un efecto moderado, pero más dilatado en el tiempo en los suelos tratados con MSWC. Los suelos con ANSS mostraron un comportamiento intermedio. El tipo de enmienda aplicada explicó el 54,7% de la variabilidad de  $R_s$ . Por otro lado, la aplicación de los BOR influyó en la relación entre la  $R_s$  y las variables climáticas del suelo. Los resultados mostraron un aumento de dependencia de la  $R_s$  frente a la temperatura del suelo ( $T_s$ ) y una disminución de la dependencia de la humedad del suelo ( $M_s$ ) con la aplicación de las enmiendas. El efecto Birch fue más relevante en los suelos tratados, mientras que la interacción  $T_s$ - $M_s$  sólo tuvo una influencia significativa en los suelos sin tratar (CONT). Los resultados apuntan a la conveniencia de la utilización de composta de residuos sólidos urbanos (MSWC) y ANSS como práctica agrícola para la gestión del carbono a medio plazo.

## **How do biodegradable organic residues affect soil CO<sub>2</sub> emissions? Case study of a Mediterranean agro-ecosystem**

### ***Abstract***

The present work investigates the evolution of soil respiration (Rs) in a semiarid Mediterranean agro-ecosystem after the application of three different biodegradable organic residues (BOR) (municipal solid waste compost (MSWC) and anaerobically (ANSS) and aerobically (AESS) digested sewage sludge). We study how these amendments affect the relationship between Rs and soil climate variables. We observed a clear increase in Rs a very short time after the application, especially in AESS-treated soils. Annual evolution of Rs was highly correlated with the carbon fractions of the BORs applied, with the highest effect seen in AESS-treated soils after a short time, and a moderate but perdurable effect in MSWC. ANSS showed an intermediate behaviour. The type of amendment explains 54.7% of Rs variability. Moreover, application of BOR changed the relations between Rs and soil climate conditions. The results showed an increase in soil temperature (Ts) and a decrease in soil moisture (Ms) dependence of Rs with the treatments. The Birch effect was more relevant in treated soils, while Ts-Ms interaction only had a significant influence on untreated control soils (CONT). The results point to the advisability of using highly composted wastes (MSWC) and ANSS as an agricultural practice for medium-term carbon management.

#### 4.4.2 Introduction

The emission of CO<sub>2</sub> by the soil plays a major role in carbon fluxes in terrestrial ecosystems (Davidson et al., 2002). In fact, soil emissions are the source of five to ten times more CO<sub>2</sub> than is produced by burning fossil fuels, according to reports from the IPCC (2007) and US DOE (2008). The depletion of the soil organic carbon pool contributes significantly to global CO<sub>2</sub> emissions (Bellamy et al., 2005), contributing an increase of 78±12 Pg of C to the atmosphere (Lal, 2004). Soil respiration (Rs) is the main output of CO<sub>2</sub> and is strongly controlled by a series of environmental factors (Kechavarzi et al., 2010). Soil moisture and temperature are the main environmental factors controlling soil respiration, and explain 89% of their variability (Qi and Xu, 2001; Fang and Moncrieff, 2001). In arid and semiarid ecosystems, soil respiration also follows a pulsed response pattern related to precipitation events –known as the Birch effect– particularly during prolonged dry periods (Davidson et al., 2000; Almagro et al., 2009). In the context of global change, the increase in soil temperature and the modification of rainfall patterns will promote an increase in soil CO<sub>2</sub> emissions (Jabro et al., 2008; Deng et al., 2010). The availability of organic carbon substrates for microorganisms may also potentially influence soil respiration (Raich and Tufekcioglu, 2000; Khomik et al., 2006). Chen et al. (2010) suggested that soil organic carbon could be one of the main determinants of soil respiration, particularly over large time scales. Thus, the quality and composition of the carbon source has a decisive influence on the pulse of CO<sub>2</sub> (Conant et al., 2000 and 2004; Balogh et al., 2011). Some authors have argued that pulses of CO<sub>2</sub> are derived from the microbial metabolization of labile SOC, which becomes available as wetting and drying physically disrupts soil aggregates (Adu and Oades, 1978; Schimel and Schaffler, 2012). Finally, changes in land use and management practices may promote significant differences in soil emission rates related to the loss of soil organic carbon (SOC), as indicated in the context of the EU by Janssens et al., 2005; Schulze et al., 2010.

Moreover, the role of soils as a carbon sink has been the focus of interest due to soil's ability to accumulate and preserve organic matter (Zinati et al., 2001; Heras, 2005). In this sense, the application of biodegradable organic residues (BOR) on agricultural soils is a common practice (Albiach et al., 2001; Casado-Vela et al., 2006). However, the effect on CO<sub>2</sub> emissions after the application of BOR has recently been the object of research,

and there are a number of studies on the effect of these amendments in calcareous Mediterranean soils (Moreno et al., 2008; Tian et al., 2008). The application of organic amendments increases the production of CO<sub>2</sub> (Sheppard et al., 2005; Song and Lee, 2010), related to changes in soil microbiota produced by the amendment (Franco-Otero et al., 2011), which represents a carbon source for the growth of microorganisms. Therefore mineralization rates will be faster or slower depending on the amount applied (Quemada and Mencaho, 2001; Gonzalez-Ubierna et al., 2012) and on its composition (Fernandez et al., 2007, González-Ubierna et al., 2013a). A high presence of soluble or labile carbon forms assumes higher rates of soil respiration, as these are the most readily mineralized (Van Veen et al., 1985; Flavel et al., 2005). Hernández-Apaolaza et al. (2000) indicate that applications of polymerized amendment have less influence on the initial respiratory activity than other more recent organic matter. Therefore the effect of stabilization techniques on organic wastes could improve the retention of organic C in soil after the amendment (Dere and Stenhouwer, 2011). Although the effect of different organic amendments such as composted sewage sludge, thermally-dried sludge, slurry, etc. on soil properties and carbon mineralization has been the object of numerous studies (Albiach et al., 2001; Pérez-Lomas et al., 2010; Franco-Otero et al., 2011), the effect on soil respiration processes has yet to be comprehensively studied *in situ*. In summary, the type of amendment and its management practices appear to configure the mineralization/humification ratio after amendment, causing the soil to act as a sink or as a source of CO<sub>2</sub>.

The main objective of this work is to investigate the impact on Rs of a semiarid Mediterranean agro-ecosystem of the application of biodegradable organic residues (BOR). We also study the way in which the amendment affects the relationship between Rs and soil climate variables. This paper contributes to the understanding of the best management practice in terms of soil CO<sub>2</sub> emissions.

#### 4.4.3 *Material and methods*

##### 4.4.3.1 *Study area*

We selected an experimental agricultural farm located in the southeast of the Madrid Region (Spain), near the city of Arganda del Rey (Datum ED-50, UTM 30T: X: 457673.84, Y: 4462824.553). The typical Mediterranean climate of the site is characterized by distinct seasonal and daily contrasts, which situate it in a Mediterranean pluviseasonal-oceanic bioclimate, on a dry meso-Mediterranean belt ([www.globalbioclimatics.org](http://www.globalbioclimatics.org)). In our year of experimentation (2010-2011) the average annual rainfall was 430 mm, with a marked minimum in summer (50 mm). The average annual temperature was 19°C; with maximums in summer that often exceed 35°C. This atmospheric climate produced clear seasonal variations in soil temperature (Ts) and moisture (Ms), with a maximum of 29°C and a minimum of 3°C, and  $0.304\text{m}^3\text{m}^{-3}$  and  $0.045\text{m}^3\text{m}^{-3}$  for soil moisture. The maximum temperatures coincide with minimum water contents in summer, awhile in winter we could see the highest Ms and lowest Ts. The mean annual Ts was 15.5°C and mean Ms was  $0.173\text{m}^3\text{m}^{-3}$ . Daily variations in Ts also were significant, with a maximum difference of 0.98°C in October and a minimum of 0.07°C in January. As expected, no significant daily differences were found for Ms.

The area is an alluvial terrace of the Jarama river basin, on quaternary calcareous sediment. The soil is therefore a calcareous Fluvisol, transformed by historical agricultural use into an Anthrosol (FAO, 2006). We could distinguish an Ap horizon (0-40 cm) with properties similar to an Anthragric horizon (organic carbon content close to 1%, a moderately basic pH (pH =8), low surface stoniness and high permeability), and a subsurface horizon (40-80 cm) with characteristic subsurface compaction due to the intensive use of farm machinery.

##### 4.4.3.2 *Biodegradable organic amendments*

We selected three types of BOR, the main representative of organic wastes from urban areas in EU: aerobically digested sewage sludge (AESS), anaerobically digested sewage sludge (ANSS), and municipal solid waste compost (MSWC). AESS and ANSS were

collected from two wastewater treatment plants in the metropolitan area of Madrid. The MSWC was collected from Valdemingomez, the main landfill site for the city of Madrid. After its generation, the AESS underwent only an air-drying process; however the ANSS was treated in digesters without the addition of oxygen. The MSWC derived from composting organic waste from the city of Madrid. The main chemical properties of the amendments applied are shown in Table 4.4.1. In terms of metal content, the sludge was in compliance with the national and European legislation for agricultural use (CEC, 1986; RD, 1990).

**Table 4.4.1 Specific characteristics of the organic amendments**

Variable	Anaerobic Sludge	Aerobic Sludge	Municipal Solid Waste Compost
Dry weight (% DW)	22.00	23.29	33,90
C (g kg <sup>-1</sup> )	249,90	344,90	286,50
N (g kg <sup>-1</sup> )	46.00	28.40	19.10
C/N	5,43	12.14	15.00
P (mg kg <sup>-1</sup> )	35.00	25.10	37.00
pH	7,7	8,2	6,5
EC (μS cm <sup>-1</sup> )	1435	1486	10870
CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup> (%)	4,13	1,32	5,9
Ca (g/kg)	50,00	36,60	41,00
K (g/kg)	4,40	3,60	4,70
Mg (g/kg)	4,80	5,00	5,10
Fe Tot. (g/kg)	6,17	12,87	5,10
Cd (mg/kg)	< 2,00	1,73	0,89
Cr (mg/kg)	71,00	71,35	108,00
Cu (mg/kg)	232,00	285,39	231,00
Hg (mg/kg)	5,00	0,37	1,43
Ni (mg/kg)	35,00	27,04	7,53
Pb (mg/kg)	265,00	130,62	132,00
Zn (mg/kg)	1296,00	471,76	433,00

#### 4.4.3.3 *Experimental design*

We designed three randomized blocks of four soil plots (10x15 m each one). Each block contained one plot with a single high dose (160 Mg ha<sup>-1</sup> in dry weight) of each selected BOR (AESS, ANSS and MSWC), and one control plot without any addition (CONT). We selected this single high dose for various reasons: our previous experiment found significant results with this dose (González-Ubierna et al., 2012); we used only one single application; and our aim was to force the ecosystem in order to observe clearly the effect of the amendment. The amendments were applied and mixed with the topsoil using a rototiller to a depth of 20cm. Three PVC cylinders, 20cm in diameter, were installed in each plot at random for Rs sampling. Before the CO<sub>2</sub> measurements, vegetation was only removed in respiration cylinders in order to eliminate the plant respiration effect; other than that, no maintenance work, watering or cutting of the vegetation was done on the plots after the organic incorporation.

#### 4.4.3.4 *Sampling*

We monitored Ts and Ms in the first 30 centimetres of soil using a tensiometer fitted with a battery for a Jet Fill 2725 blood-pressure tensiometer equipped with a thermometer (Soil Moisture Equipment Corp.). In order to characterize the rainfall pattern, we calculated the rewetting index (RWi) following the expression of Almagro et al. (2009):

$$RWi = P/t$$

where RWi is the rewetting index, P is precipitation (mm), and t is time elapsed between rainfall event measurement (days).

We also calculated the Q<sub>10</sub> coefficient, which expresses the temperature sensitivity of Rs (Chang et al., 2012). We calculated Q<sub>10</sub> derived from an exponential model (Jenkins and Adams, 2011), following the equations:

$$R_s = a e^{bT_s} \rightarrow Q_{10} = e^{10b}$$

where a and b are fitted parameters from the exponential model.

Respiration data were taken fortnightly over a year after the application of the amendments. Samples were taken *in situ*, using an infrared detector (model Li-COR 8100), with a chamber with a diameter of 20 cm. In order to monitor the intra-annual and intra-day variations in soil CO<sub>2</sub> emission rates, we took Rs measurements at three times of day: at dawn (between 6 and 8 am depending on the season), with the minimum temperatures of the day; at midday (between 12 and 3 pm), with the maximum temperatures of the day; and in the afternoon (between 5 and 8 pm), with intermediate values. Thus, we made 3 measurements in each plot, with a total of 9 measurements per treatment for each measurement, and 27 for each day of sampling. This gave a total of 729 measurements per treatment in total.

We characterized our soil carbon fractions in each season of the year, with a Rovira and Ramón-Vallejo (2007) recalcitrance index (RI). The index allows us to see the relation between stable recalcitrant carbon and the highly biodegradable labile carbon fractions in each amended and CONT soil.

#### 4.4.3.5 Statistical analysis and empirical models

The statistical treatment of the results was done by means of an analysis of variance (ANOVA) using the F distribution method, Fisher-Snedecor, with a confidence level of over 95% ( $p < 0.05$ ), with SPSS v.17 for the Microsoft Windows operating system. This analysis was used to study the differences between dates. To analyze the differences in soil CO<sub>2</sub> emissions under the different treatments, a two-factor ANOVA was carried out with repeated measures on one factor (split-plot model).

For Rs and soil climatic factors relations we carried out two approximations: we studied seasonal and very short time relations with a non-parametric correlation analysis (Spearman's Rho) and multiple regression analysis; while for annual relations we applied a Gaussian empirical model. In our latest work (González-Ubierna et al., 2012), we found



that the Gaussian model is the best approach for expressing single relationships between soil climate variables (temperature, moisture or RWi) and soil respiration. Also, we devised a modification of Martin and Bolstad's model (Martin and Bolstad, 2009) to include all these variables in a single expression:

$$(R_s) = b_1 + b_2 T_s + b_3 T_s^2 + b_4 M_s + b_5 M_s^2 + b_6 T_s M_s + b_7 RW_i$$

where  $T_s$  is soil temperature,  $M_s$  soil moisture,  $RW_i$  rewetting index,  $R_s$  soil respiration and  $b_1$  to  $b_7$  are model fitted parameters.

#### 4.4.4 Results

##### 4.4.4.1 Soil respiration evolution over a very short period

The priming effect –a high increase in  $CO_2$  emissions after application– was relevant and significant ( $p < 0.05$ ) within a very short time (in the first month); this effect was subsequently modulated by soil climate variations (Figure 4.4.1). At the beginning of the experiment, immediately after application,  $R_s$  measurements showed a significant increase, with a clearly gradation: AECS ( $10.34 \mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$ ) > ANSS ( $9.47 \mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$ ) > MSWC ( $7.25 \mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$ ) > CONT ( $2.88 \mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$ ). All of the differences were remained in all daytimes, except between MSWC and CONT soils, which showed no differences in measures made at dawn (lowest  $T_s$ ).

Two weeks after application (second measure date),  $R_s$  was strongly limited by the sharp decrease in  $M_s$ . In the measurements taken at midday when  $M_s$  was the lowest, we only found significant differences between ANSS and CONT soils. At the times of the other two measurements, only sludged soils showed significant differences with CONT soils. Finally, one month after the amendments (third measure date), after a rainfall event and subsequent higher  $M_s$ , all soils in the treated plots showed a significantly higher  $R_s$  than CONT soils, at all times of day.

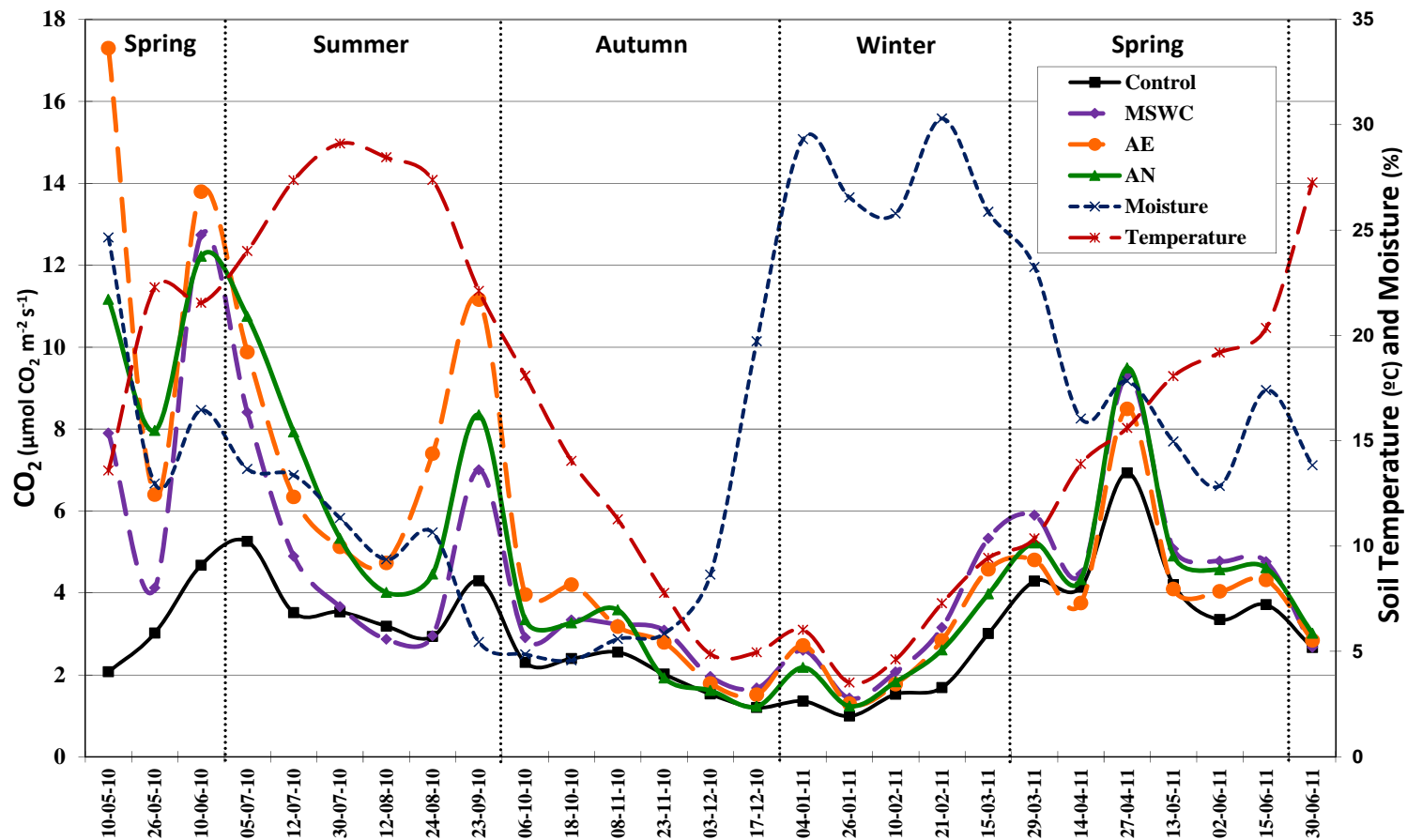
The multiple regression analysis showed that climatic factors explained the 71% of  $R_s$  variability in CONT soils, while in treated soils climatic factors not showed significant

relations with Rs in the first month after the application. ANOVA analysis showed that the type of treatment explained the 76.3% of variability in Rs.

##### *4.4.4.2 Seasonal evolution of soil respiration.*

The control soil showed the lowest value of Rs throughout the whole experiment, while AESS and ANSS showed the highest Rs rates (Figure 4.4.1). All soils had high seasonal variations related to climate variables, with the highest Rs rates in spring and summer and the lowest in autumn and winter. Multiple regression analysis (Table 4.4.2) revealed that Ts was the main factor in Rs variability in all cases, except in AESS; Ms was significant only in the case of MSWC-amended soils. Soil rewetting due to precipitation pulses (RWi) produced a Birch effect, which was especially significant in amended soils, being the main factor in AESS amended soils.

Figure 4.4.1 Annual soil respiration evolution.



**Table 4.4.2 Multiple regression analysis results**

		<b>Soil Temp.</b>	<b>Soil Moist.</b>	<b>RWi</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
Annual	CONT	30.1	-	1.4	<b>0.315</b>
	MSWC	20.3	0.8	7.7	<b>0.288</b>
	AESS	14.0	-	18.7	<b>0.327</b>
	ANSS	27.9	-	9.5	<b>0.374</b>
Short Time	CONT	57.4	14.1	-	<b>0.716</b>
	MSWC	-	-	-	<b>0</b>
	AESS	-	-	-	<b>0</b>
	ANSS	-	-	-	<b>0</b>
Summer	CONT	-	49.2	-	<b>0.492</b>
	MSWC	-	32.7	-	<b>0.327</b>
	AESS	-	21.6	-	<b>0.216</b>
	ANSS	48.7	9.9	-	<b>0.586</b>
Autumn	CONT	-	34.8	3.0	<b>0.378</b>
	MSWC	-	38.1	1.8	<b>0.399</b>
	AESS	24.7	4.0	-	<b>0.287</b>
	ANSS	38.5	5.2	-	<b>0.437</b>
Winter	CONT	27.7	5.7	-	<b>0.334</b>
	MSWC	57.7	-	1.6	<b>0.593</b>
	AESS	41.3	-	1.6	<b>0.429</b>
	ANSS	48.0	-	-	<b>0.480</b>
Spring	CONT	19.0	-	-	<b>0.190</b>
	MSWC	28.6	-	-	<b>0.286</b>
	AESS	10.6	-	-	<b>0.106</b>
	ANSS	17.7	-	-	<b>0.177</b>

The ANOVA analysis for annual data showed significant differences in Rs rates on different dates, and also that these differences were not equal for each of the treatments over time. The type of treatment explains 54.7% of the variance in the difference in Rs. According to this analysis, soil CO<sub>2</sub> emissions were significantly lower in CONT soils than in amended soils, with no significant differences between amended soils (Table 4.4.3).

Table 4.4.3 Two way ANOVA with repeated measures results

	Annual Data				
	<i>Sum of squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean square</i>	<i>f</i>	<i>p</i>
<b>Time</b>	21128.673	80	264.108	67.750	**
<b>Treatment</b>	2265.775	3	755.258	11.606	**
<b>Time x Treatment</b>	5786.964	240	24.112	5786.964	**

According to this analysis, the type of treatment was the main factor affecting CO<sub>2</sub> emissions.

- In summer, emissions were the highest in amended soils. The type of treatment explained 59.5 % of the variance in Rs. In this period, the Rs of AESS-treated soils was highest ( $5.54 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), so closed to ANSS soils ( $5.52 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), followed by MSWC soils ( $4.01 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), and finally by CONT soils ( $3.19 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). The differences were statistically significant except between the sludged soils. In this period, the statistical analysis showed the highest influence of soil environmental factors (Ms, Ts and RWi) on amended Rs in the year of study. Also, the variability in Rs values was the highest in amended soils, controlled by Ms in all treatments, except in ANSS, that was controlled by Ts.
- In autumn, Rs not showed great variations between treatments and dates, and the values were the lowest of the year. The type of treatment explained 28.3% of the Rs variance. In this period, Rs in CONT soils was half that obtained in summer. The Rs by treatment was: MSWC-treated soils ( $2.55 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), AESS soils ( $2.47 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), ANSS soils ( $2.23 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), and CONT soils ( $1.88 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). In this case, the Rs observed in CONT soils and in soils amended with ANSS did not differ significantly, as observed among all the amended soils (Table 3). Daily variations reveal differences throughout the day: at dawn, MSWC-treated soils were the only soils in which CO<sub>2</sub> emissions were statistically different from CONT soils, whereas at midday all treatments differed significantly from CONT soils. Finally, in the evening AESS- and MSWC-amended soils showed statistical differences with CONT and ANSS-amended soils. In this period Ms was the most significant factor affecting Rs in CONT and MSWC amended soils, with a few

influence of RWi. While in sludged soils was Ts, with Ms as secondary factor to explain Rs variability.

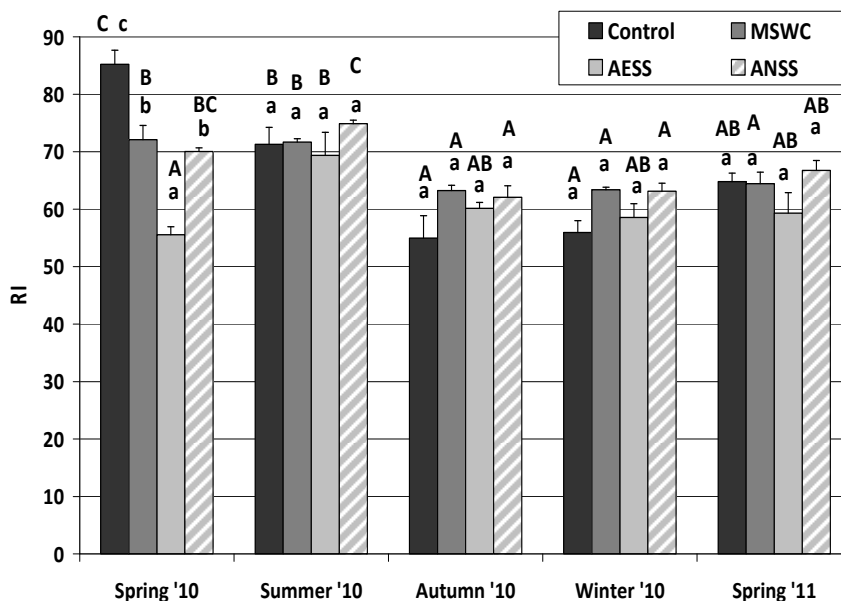
- In winter we saw the lowest values, but medium Rs were higher than in autumn. In this period, CONT Rs was significant lower than amended soils. The order of Rs by treatments was: MSWC-treated soils ( $2.62 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), AESS soils ( $2.31 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), ANSS soils ( $2.16 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), and CONT soils ( $1.51 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Results only showed statistical differences between CONT soils and the rest of treatments. Daily variations in this period showed the same results than autumn. In this period Ts was the most significant factor affecting Rs in all soils, while the type of treatment explained 44.7% of the variance.
- In spring the type of treatment explained 32.1% of the variance. In this period the CO<sub>2</sub> emissions increased and the behaviour of the amended soils varied from the second period. In this case the order was: MSWC-treated soils ( $4.89 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), ANSS soils ( $4.75 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), AESS soils ( $4.12 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), and CONT soils ( $3.90 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). There were statistical differences in the Rs rate between CONT and ANSS and MSWC plots; nevertheless no significant differences were observed among the rest of treatments. If we focus on the daily variations, the main significant differences in Rs rates were found at dawn, between AESS and MSWC. In the evening, significant differences only remained between the MSWC and CONT plots. In spring the influence of soil environmental factors on Rs decreased in amended soils, although unlike the other two periods, no main factor was found. In this period only Ts was relevance on Rs variability.

##### 4.4.4.3 Recalcitrance index (RI)

The RI results showed no significant differences between amended and CONT soils except at the start of the experiment (spring 2010). At this time, AESS-amended soils showed the lowest value of the index, indicating that these soils had the highest content in labile carbon forms. As expected, the highest value of the index was found in CONT soils, followed by MSWC-amended soils. In summer all soils showed statistically equal RI

values. In autumn RI showed a decrease in all soils. From winter to spring, RI increased (Figure 4.4.2).

**Figure 4.4.2 Recalcitrance index. (Capital letters indicate differences between dates and lowercase between treatments)**



#### 4.4.4.4 Influence of soil temperature, soil water content and rewetting on annual respiration.

The correlation results showed a significant positive relationship between  $T_s$  and  $R_s$  in all treatments ( $p < 0.001$ ), especially in ANSS soils (Table 4.4.2). The dependence between  $T_s$  and  $R_s$  was highlighted by the values of  $Q_{10}$ , with similar values in ANSS ( $Q_{10} = 2.01$ ) and AESS ( $Q_{10} = 1.98$ ); both were significantly higher than for MSWC ( $Q_{10} = 1.04$ ) and CONT soils ( $Q_{10} = 0.94$ ). The application of a Gaussian model (Figure 4.4.3a and Table 4.4.4) showed similar results, with the highest dependence with  $T_s$  in ANSS and the lowest in CONT plots. However, in this analysis, MSWC followed a similar pattern to AESS. The temperature which produced the maximum  $R_s$  was 20°C for CONT, ANSS and AESS, while in the case of MSWC the  $T_s$  was 18°C. Moreover, the Gaussian model showed that the highest basal respiration was in MSWC-treated soils, while the lowest was in CONT soils.

The relationships between Rs and Ms were statistically significant, but lower than for Rs and Ts. Correlation analysis showed a negative relation between Ms and Rs ( $p < 0.001$ ). The highest negative correlation value was for CONT soil, while for MSWC soils we found no significant correlation between Ms and Rs. AESS and ANSS had an intermediate values between CONT and MSWC. The Gaussian model applied (Figure 4.4.3b and Table 4.4.4) showed the highest Ms effect on Rs in CONT soils, followed by ANSS; while AESS was the treatment with the lowest effect of Ms on Rs rates. Soil respiration reached its maximum when soil moisture was  $0.150 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$  in CONT and AESS plots; in ANSS and MSWC the optimum value of Ms was  $0.175 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ .

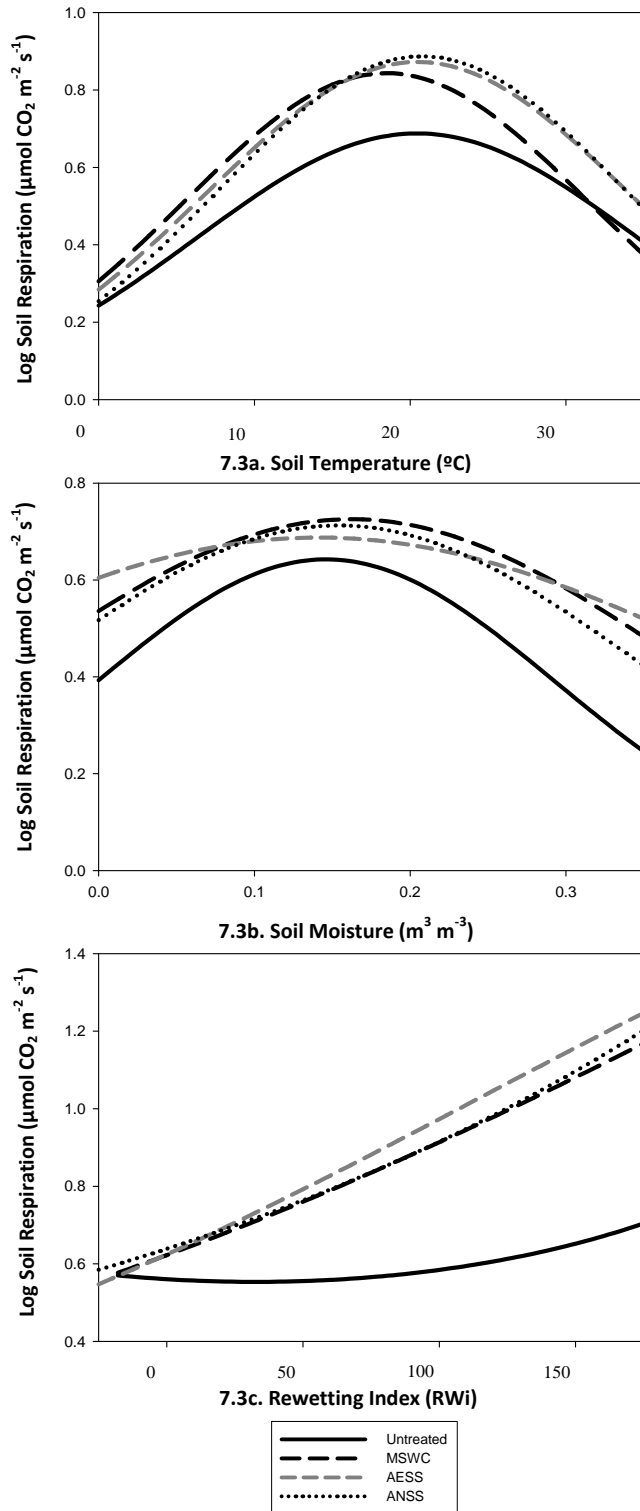
Finally, the correlation between soil  $\text{CO}_2$  emissions and RWi showed a statistically positive relation in all treatments ( $p < 0.001$ ). The relations were highest in MSWC and lowest in CONT. For sludge-treated soils, the coefficient was similar in the two treatments. The Gaussian model (Figure 4.4.3c and Table 4.4.4) showed a very low determination coefficient for CONT soils; nevertheless in all other cases the determination coefficient was higher than CONT, and fairly similar. The model showed the highest effect of RWi in AESS, followed by MSWC, while CONT soils showed the lowest effect. This analysis indicated that ANSS had the highest basal Rs value, while CONT soils continued to have the lowest.

**Table 4.4.4 Gaussian model parameters and correlation coefficients**

		$Q_{10}$	$b1$	$b2$	$b3$	$r^2$	Correlation
Temp.	CONT	2.01	-1.414	10.162	-24.828	0.401	0.523**
	MSWC	1.98	-1.184	10.976	-29.714	0.410	0.388**
	AESS	1.04	-1.257	10.941	-26.708	0.329	0.530**
	ANSS	0.98	-1.369	12.034	-28.980	0.485	0.618**
Moist.	CONT	-	-0.934	6.734	-23.061	0.229	-0.290**
	MSWC	-	-0.624	3.739	-11.533	0.066	-0.081
	AESS	-	-0.503	1.816	-6.426	0.018	-0.132**
	ANSS	-	-0.660	4.173	-13.554	0.067	-0.160**
RWi	CONT	-	-0.579	-0.076	0.118	0.014	0.129**
	MSWC	-	-0.474	0.416	-0.032	0.269	0.404**
	AESS	-	-0.471	0.509	-0.065	0.205	0.278**
	ANSS	-	-0.448	0.356	0.003	0.182	0.269**



**Figure 4.4.3 Application of Gaussian empirical model to respiration and soil climatic factor relationships**



The application of our modified Martin and Bolstad model (Table 4.4.5) supported the following results:  $R_s$  was closely related with  $T_s$  in all cases, especially in ANSS;  $R_{Wi}$  was also related with  $R_s$ , particularly in AESS. However the results found for  $M_s$  were unexpected: the effect of  $M_s$  in CONT was the lowest. This model indicated that the interaction of  $M_s$  and  $T_s$  controlled CONT soil respiration.

**Table 4.4.5 Modified Martin and Bolstad model parameters**

<i>Treatment</i>	<i>b1</i>	<i>b2</i>	<i>b3</i>	<i>b4</i>	<i>b5</i>	<i>b6</i>	<i>b7</i>	<i>r</i> <sup>2</sup>
CONT	-1.440	10.907	-35.199	0.137	-3.002	16.321	-0.469	0.574
MSWC	-1.465	12.670	-38.021	0.708	-0.323	5.004	0.002	0.559
AESS	-1.779	15.435	-39.142	1.127	1.660	-9.047	0.385	0.458
ANSS	-2.031	17.282	-44.813	2.773	-2.709	-6.894	0.159	0.574

#### **4.4.5 Discussion**

##### *4.4.5.1 Influence of the type of treatment on soil respiration*

BOR application on agricultural soils promoted an increase in  $R_s$  rates, as pointed out by Song (2010). Chen (2010) suggests that topsoil carbon storage is an important determinant of annual  $R_s$  in croplands and grasslands. For this reason, the process and composition of the BOR determines the evolution and behaviour of  $R_s$  rates. These results fitted well with our previous experiments (González-Ubierna et al., 2012).

Sanderman et al. (2003) noted that differences in soil carbon pools can alter both peak and basal  $R_s$  rates. Data showed that  $R_s$  rates were influenced by the treatments, and that CONT soils emitted significantly less  $CO_2$  than amended soils. In general,  $T_s$  guided  $R_s$  evolution, as suggested by Fang and Moncrieff (2001) and Almagro et al. (2009).

##### *4.4.5.2 Soil respiration evolution over a very short period*

A clear rise in  $R_s$  was observed immediately after the application of the amendment, as noted in other studies (Wong et al., 1998). This increase was more intense in the case of

AESS, while the MSWC-amended soils showed the lowest effect. We explained this fact due to the polymerization of their carbon forms (González-Ubierna et al., 2012), with the highest presence of simple carbon forms in AESS and the lowest in MSWC (see Section 3.1.3). According to Odlare et al. (2008), soil microorganisms respond relatively fast to the content of easily-degradable carbon. Kuzyakov defines the priming effect (PE) as intense short-term changes in the turnover of native soil organic matter caused by comparatively moderate treatments of the soil (Kuzyakov et al., 2000). Although many mechanisms for PE have been proposed (Kuzyakov, 2010), the most widely accepted is the acceleration or retardation of soil organic turnover due to increased activity or amount of microbial biomass. For this reason, the decomposition rates of soil organic matter pools were dependent on environmental factors (Ts and Ms) and on the state of the microbial biomass. We might add that amendment carbon pools are a key factor in this process. Our RI results showed a significantly higher content in labile carbon forms in AESS than in ANSS and MSWC, while CONT soils showed the lowest labile carbon contents (Gonzalez-Ubierna, et al., 2013).

The absence of significant differences in RI between amended and CONT soils from summer on suggested that most of the labile carbon forms in the amendments were consumed in the first month, as noted previously by Blagodatsky et al. (2010). The consumption of the labile forms of the BORs depends on several factors, such as the accessibility of the microorganisms to these substrates; environmental conditions (Ms and Ts); and decomposition rates, among others (Schimel and Schaffer, 2012). In our case study, the initial explosion in Rs was highly modulated by Ms, especially in AESS-amended soils.

#### 4.4.5.3 *Seasonal soil respiration evolution*

In the first three months (summer period), AESS- and ANSS-amended soils emitted significantly higher levels of CO<sub>2</sub> than MSWC and CONT soils. This fact may be related to the composting processes used in the different amendments, as Bernal et al. (1998) suggested that the soil mineralization rates decrease when the applied amendment has been composted for a long period of time. After the application, sludge-treated soils

(AESS and ANSS) showed the highest  $R_s$  rates, due to the higher bioavailability of their labile carbon forms. In this period, Ms and Ts controlled  $R_s$  in amended soils, while in CONT soils  $R_s$  was mainly driven by Ts. This is due to the fact that the application improved the water retention capacity, thereby increasing the influence of Ms on soil  $\text{CO}_2$  emissions (Song, 2010).

In autumn, low temperatures induced a deceleration in  $R_s$ , and statistical differences disappeared between ANSS and CONT soils, and between AESS, ANSS and MSWC. We found the minimum  $R_s$  in autumn, whereas other studies under Mediterranean conditions (Rey et al., 2002; and Almagro et al., 2009) found this minimum in summer; this is possibly due to the fact that in our experiment the drought period was in autumn. Additionally, in this period there is in all cases a general decrease in RI as a result of the accumulation of labile forms at the end of the summer, caused by the decrease in the activity of the microbial populations in these unfavourable moisture conditions (González-Ubierna et al., 2012).

In the cold period (winter), Ts drove  $R_s$  variability in all cases, and the influence of Ms in  $R_s$  disappeared. It appears that low temperatures controlled  $R_s$  in this period, while the effects of amendment were reduced. Daily variations in winter showed the lowest emissions occurred with the lowest temperature at dawn, when only MSWC-treated soils showed statistical differences with CONT soils; at midday when the temperature rose the emissions also rose; and in this case, all treatments showed differences with CONT soils (González-Ubierna, 2013b).

At the start of spring, a rise in the  $\text{CO}_2$  emissions of all soils was observed due to increases in temperature and moisture. At this time, the lowest value of SOC was found in AESS-amended plots (in González-Ubierna, et al. 2012), as this treatment had the highest rate of mineralization at the beginning of the experiment; this data had previously been reported by Fernandez et al. (2007). The low availability of carbon after one year induced a sharp decrease in  $R_s$  rates in AESS soils, without any statistical difference with CONT. In contrast, the  $R_s$  rates in ANSS and MSWC soils showed statistical differences with CONT soils. MSWC soils had the highest  $\text{CO}_2$  emissions and SOC, therefore these soils showed the most stable behaviour due to their complex carbon forms. ANSS soils had an intermediate behaviour, with medium  $R_s$  rates in every period. Grigatti et al. (2011) found similar results, with lower mineralization rates in MSWC-amended soils, followed by ANSS

and AESS soils. In any case in this period, rainfall pulses controlled the fluctuations in CO<sub>2</sub> emissions.

#### *4.4.5.4 Influence of soil temperature, soil water content and rewetting in annual respiration*

Rs increased its dependence on Ts under the application of different BOR. ANSS showed the highest dependence in its Rs rates, while MSWC and AESS showed similar behaviour, with a slight increase in Rs dependence on Ts compared to CONT. The application of BOR produced several changes in soil microbial populations (Andrés et al., 2011); this effect could explain the changes in the relationship between Ts and Rs. We expected to find the greatest effect in AESS soils, due to their higher effect on Rs and soil chemical properties (González-Ubierna et al 2012 and 2013); however, ANSS was the treatment with greatest influence on the relationship between Ts and Rs, which could be at least partially explained by the changes in the structure of microbial populations (Gondim-Porto, 2012).

The negative correlation between Ms and Rs in all amended and CONT soils could be explained by the fact that the high water content in the soil may impede the diffusion of CO<sub>2</sub> throughout the soil profile (Skopp et al., 1990). Another possible explanation for the decrease in CO<sub>2</sub> emissions with high soil water content may involve the partial dissolution of CO<sub>2</sub> in the water, transforming this gas into soluble hydrogen carbonate, which is then washed out of the soil profile (Rochette et al., 2004). The dependence of Ms and Rs in amended soils was reduced due to the improvement in the soil physical properties and the hydrophobicity of organic carbon (Goebel et al., 2005). The greater effect of AESS on soil structure was cited by Navarro-García et al. (2012), who explain this as being due to its lower polymerized carbon forms compared to ANSS.

In with the case of rainfall pulses, all amended soils greatly improve the response of Rs to rainfall. The rewetting process provokes a cascade of responses that mobilize and metabolize otherwise unavailable soil carbon (Marañón-Jiménez et al., 2011). AESS-amended soils showed the greatest influence of RWi on Rs. Our data could be explained by the relationship of the Birch effect with the dead soil microbial biomass (Bottner et al., 1998), and the rapid release and reassimilation of hypo-osmotic compounds (Jarvis et al.,

2007). Furthermore, microbial communities in Mediterranean soils may adapt their hypo-osmotic response to rapid potential changes in soil water (Unger et al., 2010).

The application of our modified Martin and Bolstad model suggested that in CONT soils the interaction of Ts and MS modulated Rs, whereas in treated soils the type of treatment modified the relative importance of the interaction between these climate variables. In these cases Rs was modulated preferentially by the single effect of Ts or Ms. Further research is required to explain this fact.

##### *4.4.5.5 Implications for management*

Current European regulations (Directives 86/278/EEC (CEC, 1986) and 91/692/EEC (CEC, 1991)) set the maximum regulatory criteria for sludge soil application as dependent only on the heavy metal content. The latest EC Working Document on Sludge (CEC, 2000), concerning the revision of Directive 86/278/EEC (CEC, 1986), proposes limit values for a wide range of classes of organic contaminants in sludge. Unfortunately, the implications of sludge in biogeochemical cycles have not yet been adopted in EU policies. There is thus a scarcity of studies on the environmental effects of the application of sludge on groundwater or the atmosphere.

Soil emissions are extremely important in terms of global change. Moreover changes in land use will promote an increase in the rate of atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment. According to Lal (2004), the adoption of recommended management practices on agricultural soils can reduce the rate of enrichment of atmospheric CO<sub>2</sub>. Future revisions of the regulations concerning the application of sludge and organic wastes should consider the assessment of the negative and diverse effects of different types of organic amendments on soil biogeochemical cycles, with particular attention to CO<sub>2</sub> emissions. Future studies should be developed in order to establish types of organic amendment, rates of application, timing of application, and management practices, in order to minimize CO<sub>2</sub> emissions. Thus the use of highly composted wastes (MSWC) is recommended to achieve this objective; and in the case of sludge, ANSS appears to be more stable for this purpose.

#### 4.4.6 Conclusions

- BOR application promotes a significant increase in  $R_s$  in all cases. The differences in chemical composition of the amendments modify the behaviour of  $R_s$ ; thus amendments with a greater content in labile forms (AESS) induce a rapid effect on  $R_s$ , while amendments with more recalcitrant carbon forms (ANSS and MSWC) produce a lower increase in  $R_s$  but the effect persists along time.
- The relationship between  $R_s$  and climate factors changes after the application of BOR.  $R_s$  is more closely related to  $T_s$  than to  $M_s$ ; moreover the Birch effect is increased. The importance of the  $T_s$ - $M_s$  interaction decreases compared to control plots.
- The influence of  $T_s$  above all other climate issues suggests the advisability of applying the amendment preferably in the cold dry period in Mediterranean areas.
- We recommend the use of highly composted wastes (MSWC) and ANSS as an agricultural practice for the purposes of managing carbon in the medium term.

**Acknowledgements:** This work is supported by the Spanish Ministry of the Environment and Rural and Marine Affairs (MMA0022/PC08/3-04.2). We would like to thank all the employees of the La Isla experimental station (IMIDRA) for their support, and especially Dr. Cristina Rubio. We are members of the FITOSOL Research group. Our thanks also go to Ms Pru Brooke-Turner for her revision of the English version of the text.





# DISCUSIÓN



## 5 Discusión

### 5.1 Evolución de la materia orgánica del suelo tras la aplicación de residuos orgánicos biodegradables

Este punto de la discusión se ha desarrollado a partir del esquema recogido en la figura 5.1, de elaboración propia. En la figura se representan simplificados los principales flujos y formas de carbono del suelo afectadas por la aplicación de enmiendas orgánicas, identificadas con un número para su referenciación en el texto. La aplicación de residuos orgánicos biodegradables originó, tal como se esperaba, un aumento en el contenido en carbono orgánico total del suelo (Albiach et al., 2001; Heras et al., 2005). De hecho, la principal justificación para usar estos residuos como enmienda en el suelo es su alto contenido en carbono (entrada de carbono) (1). Todas las fracciones de carbono se incrementan tras la aplicación de las enmiendas, aunque el principal aumento se produjo en las formas lábiles, ya que las enmiendas tienen formas de carbono menos complejas que los suelos (Pedra et al., 2007) (1a). Entre los residuos estudiados, el lodo aerobio fue el que mayor cantidad de formas lábiles aportó, tal y como describe Fernández et al. (2007a). Las formas lábiles sufrieron una rápida evolución, no detectándose variaciones en su contenido trascurrido un año tras la aplicación. Tan solo los suelos tratados con compost de residuos sólidos urbanos mantuvieron diferencias con los suelos control en este sentido.

La fracción soluble del carbono orgánico del suelo (1c) también sufrió un aumento significativo tras la aplicación de los residuos (Franco-Otero et al., 2012), debido a su alto contenido en esta forma de carbono (Pascual et al., 1998). La lixiviación de esta fracción de carbono, se facilitó por el alto contenido en agua de los residuos (80% en peso) (7). La evolución del carbono orgánico soluble reflejó la diferente naturaleza del carbono de cada uno de los residuos orgánicos biodegradables. Al inicio de la aplicación tan solo los suelos tratados con lodo aerobio mostraron un aumento significativo de carbono soluble, debido a su alto contenido en carbohidratos (Ros et al., 2003). El aumento de este tipo de carbono ha sido ya observado por Pascual et al. (1998) y Franco-Otero et al. (2012). Sin embargo, tras un año de evolución, son los suelos enmendados con lodo anaerobio los

que muestran diferencias con el suelo control. Una vez más, los suelos tratados con compost de residuos sólidos urbanos mostraron las menores variaciones. Al final de los periodos de experimentación todos los suelos enmendados mostraron valores de carbono soluble similares a los suelos sin tratar. La reducción de la concentración de carbono soluble se explica por el consumo y posterior mineralización por parte de la microbiota del suelo (Ros et al., 2003) (9).

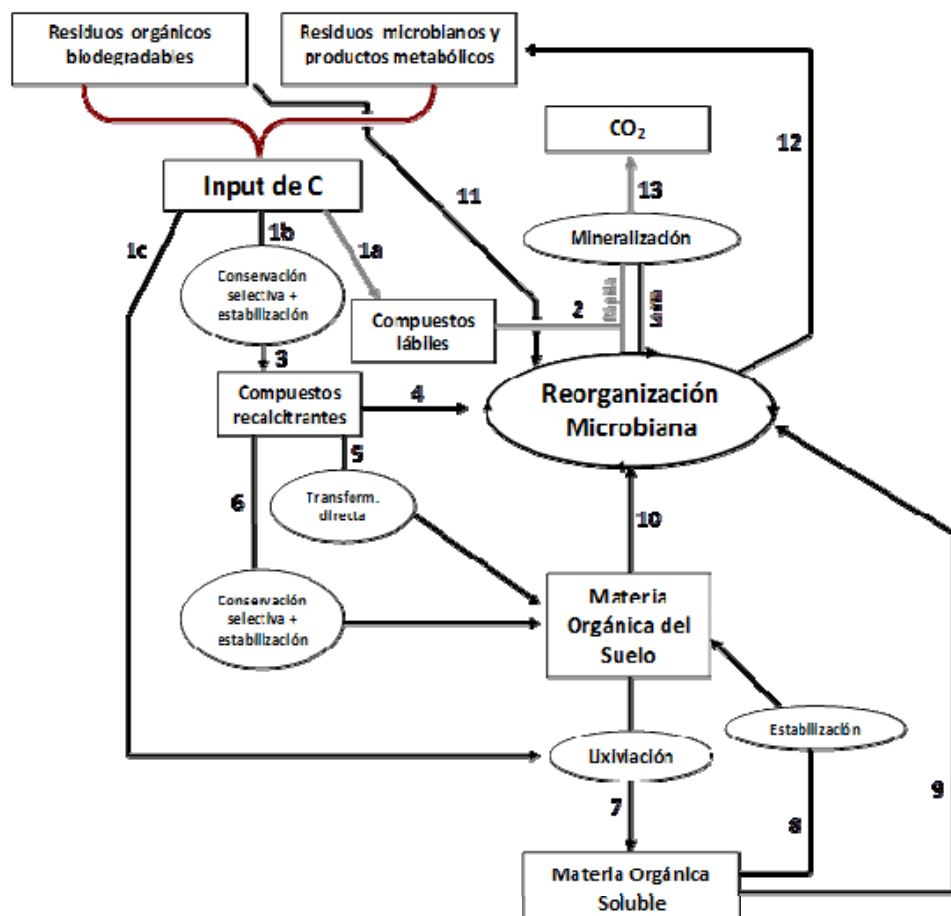
Por tanto, la mineralización de las formas lábiles y solubles, inmediatamente tras la aplicación de las enmiendas, produjo una explosión en la respiración del suelo (13), estos datos concuerdan con lo propuesto por Wong et al., 1998. Este brusco incremento en la respiración es más acusado en el caso de los suelos tratados con lodo aerobio debido al bajo grado de polimerización de sus formas de carbono (González-Ubierna et al. 2012). De acuerdo con el trabajo de Odlare et al. (2008), los microorganismos del suelo responden rápidamente al contenido en carbono fácilmente degradable. Kuzyakov define este efecto de activación o “priming effect” como los cambios que se producen de manera intensa y a corto plazo en la transformación de la materia orgánica del suelo causados tras la aplicación de tratamientos en él (Kuzyakov et al., 2000). Aunque se han propuesto muchos mecanismos para explicar este efecto (Kuzyakov, 2010), el más aceptado es la aceleración de la transformación de la materia orgánica debida al incremento de la biomasa o de la actividad microbiana. En cualquier caso, la actividad de las poblaciones microbianas está fuertemente condicionada por el edafoclima. Nuestros experimentos confirman que las fracciones de carbono de las enmiendas fueron un factor clave en este proceso, siendo mayor el efecto en las enmiendas con un mayor contenido en formas lábiles. La ausencia de diferencias significativas en el índice de recalcitrancia (ver punto 3.4) entre los diferentes tratamientos, tras tres meses, sugieren que la mayor parte de las fracciones lábiles del carbono se han consumido en ese periodo, tal y como puso de manifiesto Blagodatsky et al. (2010). Por tanto, las diferencias estadísticas entre los suelos tratados y los suelos control en relación con las formas de carbono lábil desaparecieron en el corto plazo debido a su rápida mineralización (2) y tan solo los suelos tratados con compost estabilizados procedentes de residuos sólidos urbanos mantienen diferencias con los suelos después de un año de la aplicación. La mineralización depende de numerosos factores tales como: factores climáticos, tasas de descomposición así como de la accesibilidad de las fuentes de carbono a los

microorganismos entre otros (Schimel y Schaffer, 2012). Los datos del suelo control mostraron un aumento de la proporción de formas lábiles en otoño e invierno, cuando la actividad microbiana se ve reducida por las bajas temperaturas, al igual que lo encontrado por Bol et al. (2003). Este autor afirma que el consumo de formas lábiles en relación con el de formas recalcitrantes es mayor cuando aumenta la temperatura. En el caso particular del clima mediterráneo, la humedad del suelo tuvo un papel fundamental en todo este proceso.

Las formas recalcitrantes también aumentaron (1b), aunque en menor proporción que las lábiles. En este caso, los lodos anaerobios aportaron una mayor cantidad de este tipo de carbono. En cuanto a la evolución de la fracción recalcitrante, su mayor estabilidad hizo que las diferencias con los suelos sin tratar se mantuvieran tras un año de la aplicación en suelos enmendados con lodo anaerobio o con compost de residuos sólidos urbanos. Hay que tener en cuenta que el consumo de las formas lábiles realizada por la microbiota del suelo (2) da como resultado la emisión de CO<sub>2</sub> y la formación de biomasa microbiana que contribuirá a la formación de compuestos orgánicos recalcitrantes (humina microbiana), que se incorporan a las reservas de carbono estable del suelo (Jacinthe et al., 2002) (5). Tan solo los suelos tratados con lodos aerobios, con el menor contenido en estas formas, recuperaron el valor natural en el contenido en carbono recalcitrante tras dos años. Hay que tener en cuenta que, mientras que las formas lábiles sufren una rápida evolución, muy condicionada por la humedad, la temperatura y la comunidad microbiana (Trumbore et al., 1996), el carbono recalcitrante puede mantenerse largos periodos en el suelo, resistiendo a su degradación biótica o abiótica (Harvey et al., 2012). Aunque la potenciación de estas formas de carbono se ha planteado como mecanismo de almacenamiento de carbono a largo plazo y de lucha contra el cambio climático, nuestros datos muestran que el carbono recalcitrante procedente de lodos de depuradora sufre una evolución temporal significativa, no resultando en una gran acumulación de carbono en el perfil del suelo. La enmienda con compost de residuos sólidos urbanos sí parece que podría funcionar en este sentido.

Las diferencias en el contenido en carbono orgánico total entre los suelos control y los suelos con tratamiento fueron disminuyendo con el paso del tiempo, debido a su consumo por parte de la microbiota del suelo (Fernández et al., 2007b) (2, 4 y 10).

**Figura 5.1 Esquema del ciclo del carbono tras la aplicación de residuos orgánicos biodegradables. Fuente: Elaboración propia a partir de Zerch et al., 1997**



### 5.1.1 Efectos del tipo y la dosis de los residuos aplicados

La evolución del carbono orgánico fue diferente en función del residuo aplicado, estos resultados son similares a los encontrados por Fernandez et al. (2007a):

Los suelos tratados con lodo aerobio sufrieron la evolución más rápida, debido a la menor complejidad de sus formas de carbono. Las formas lábiles aportadas se mineralizaron rápidamente, no mostrando diferencias con los suelos control tras tres meses de la enmienda. Es decir, que los suelos tratados con este residuo mostraron un efecto *priming* más acusado. Por último, el aumento en las formas recalcitrantes se diluye

rápidamente, y a los seis meses de la aplicación ya no se observan diferencias significativas con los suelos control, por lo que el proceso de humificación de estas enmiendas es muy bajo, no suponiendo una acumulación de carbono orgánico en el suelo a largo plazo.

Por su parte, los suelos tratados con lodo anaerobio aportaron más o menos la misma cantidad de carbono orgánico al suelo que los procedentes de digestión aerobia, pero la mayor polimerización de sus formas de carbono hizo que su mineralización fuera mucho más lenta. Las diferencias en cuanto al contenido en formas lábiles se mantuvieron hasta los nueve meses tras la aplicación. En este caso, el aumento en las formas recalcitrantes se reduce, aunque en mucha menor medida, por lo que al año aún existen diferencias significativas con los suelos control. Es decir, el proceso de humificación de estas enmiendas es mayor, suponiendo una acumulación de carbono orgánico en el suelo a medio plazo.

El compost estabilizado térmicamente procedente de residuos sólidos urbanos, mucho más complejo, no sufrió una evolución significativa, no detectándose variaciones significativas en el contenido en carbono orgánico total en los suelos enmendados. Por ello, transcurrido un año de la aplicación no se ha visto una reducción significativa de las formas recalcitrantes, por lo que se produce un almacenamiento de carbono a largo plazo en el perfil del suelo dadas las altas tasas de humificación. Las formas lábiles sí sufren evolución, aunque al año todavía se mantienen las diferencias significativas con los suelos control.

Por último, hemos encontrado una clara influencia de la dosis en el incremento del carbono orgánico en el suelo; así a dosis altas se aprecia mayores aumentos y una mayor persistencia en el tiempo. Albiach et al. (2001) sugiere que las diferencias en la acumulación de carbono orgánico total son menores entre tratamientos en suelos a los que se les ha aplicado dosis altas de lodos de depuradora. En relación a las distintas fracciones de carbono, la dosis de aplicación influye en su evolución, ya que las formas lábiles se consumen más rápidamente a bajas dosis (Sommers et al., 1979).

### **5.1.2 Influencia de la aplicación de los residuos en las formas inorgánicas de carbono**

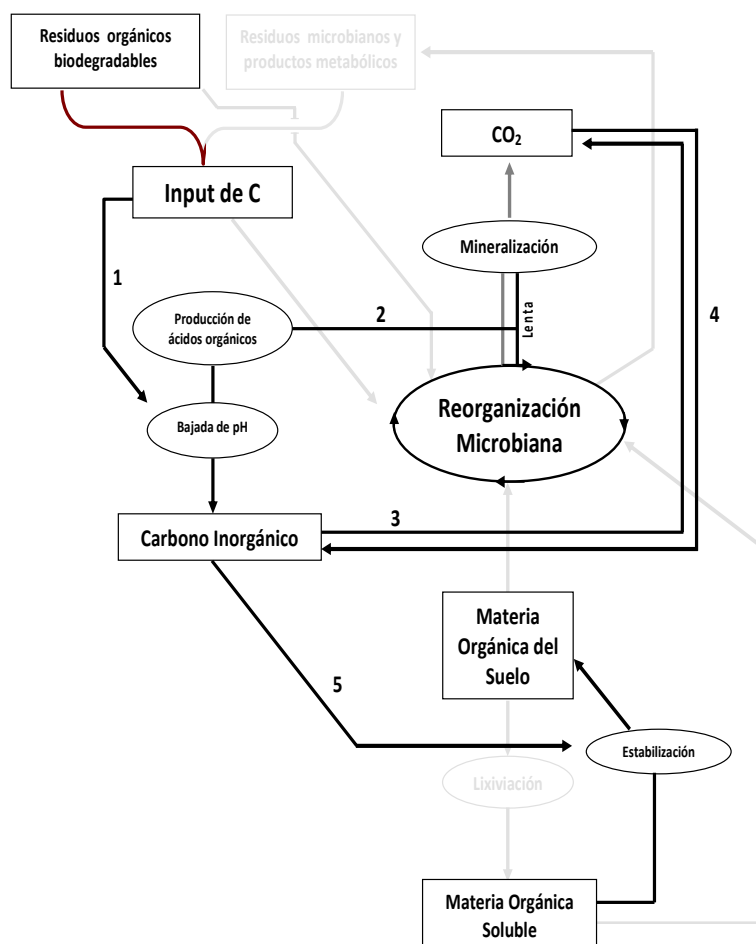
La influencia de la aplicación de los residuos orgánicos biodegradables sobre las formas inorgánicas de carbono se representa en la figura 5.2., en la que se pone de manifiesto la importancia del pH del suelo (1). Se ha observado una reducción de los valores de pH del suelo tras la aplicación de los residuos, tal y como citan diversos autores (Bernal et al., 1992; Antolín et al., 2005). La reducción de los valores de pH dependió del tipo de enmienda aplicada, aunque no estuvo relacionada con los valores iniciales del residuo, sino con las interacciones entre las enmiendas y el suelo. Así, no necesariamente la enmienda más ácida contribuyó más a la reducción del pH, sino que fue la enmienda con una materia orgánica menos estable, con un carbono más biodisponible, la que mayor disminución produjo tras su aplicación al suelo. Por su tipología, los lodos aerobios fueron los que más efecto tuvieron al inicio de la aplicación, pero su evolución produjo una recuperación rápida del valor inicial; mientras que los lodos anaerobios tuvieron menor efecto inicial, pero el suelo tratado tardó más tiempo en recuperarse. Por último, el compost procedente de residuos sólidos urbanos fue el que menor efecto produjo, y por tanto, el que menos tiempo tardó en recuperar los valores naturales. Estos hechos están relacionados con el efecto tampón del carbonato cálcico presente en la matriz del suelo. La disminución de pH del suelo se relaciona con la formación de ácidos orgánicos durante el proceso de degradación de la materia orgánica (Franco-Otero et al., 2011) (2). Esta degradación se lleva a cabo por la microbiota del suelo, por lo que una alta reducción de los valores de pH es indicativa de una alta actividad microbiana (Kaschl et al., 2002). Además, se ha observado un claro efecto dosis dependiente de la enmienda, con mayor reducción en suelos tratados con mayores dosis, tal y como indica Hemmat et al. (2010).

La reducción de los valores de pH ha generado un impacto sobre las formas inorgánicas de carbono del suelo. En el primero de los experimentos (a dosis crecientes) no se observan variaciones significativas en el contenido en carbonatos del suelo tras la aplicación de las enmiendas, debido al efecto tampón de la matriz carbonatada del suelo y a la presencia de carbonato cálcico en las enmiendas. Sin embargo, en la segunda experiencia, sí observamos un ligero descenso del contenido en carbonato en los suelos tratados con lodos de depuradora. En el caso de los suelos enmendados con compost de residuos sólidos urbanos se observó un aumento debido al contenido en carbonatos de



estos materiales (Tabla 4.2.2). La reducción de esta forma de carbono inorgánico se relaciona con la disolución del carbonato debida a la acidificación del suelo originada por la enmienda (Bastida et al., 2007). La diferencia entre las dos experiencias pudo ser debida a que en ecosistemas mediterráneos la disolución de los carbonatos está altamente influida por patrones estacionales (Serrano-Ortiz et al., 2010), que pudieron potenciar o minimizar el efecto de la acidificación del suelo sobre su contenido en carbonatos. Debido a la implicación del pH sobre el contenido de este carbono, los suelos tratados con lodo anaerobio fueron los que mayores reducciones sufrieron. Además, como el efecto no fue muy acusado, no se observó una incidencia de la dosis de aplicación en este proceso. El uso de la materia orgánica del suelo por las poblaciones microbianas implica la generación de protones, y en consecuencia la disminución de pH, produciendo la solubilización del carbonato cálcico de la matriz del suelo, tendencia común en los suelos carbonatados bajo el tipo de clima mediterráneo (Hemmat et al., 2010).

**Figura 5.2 Esquema del impacto de la aplicación de residuos orgánicos sobre el ciclo del carbono inorgánico en el suelo**



Sin embargo, la aplicación de las enmiendas si mostraron un claro efecto sobre el contenido en carbonatos ácidos solubles (bicarbonatos). El valor de esta forma de carbono está altamente influido por los valores iniciales de pH, el contenido en carbonato cálcico y por las reacciones de equilibrio del tampón carbonato-bicarbonato (Serrano-Ortiz et al., 2010). En este caso hemos encontrado dos resultados contradictorios; en el primero de los experimentos, la aplicación de lodos de depuradora conllevó un aumento de los valores de bicarbonatos solubles en el suelo, debido a que la disminución de pH influyó en el equilibrio carbonato-bicarbonato desplazándolo hacia la formación de bicarbonato y solubilizando el carbonato (González-Ubierna et al., 2012). Según estos

datos, los suelos tratados con lodo aerobio sufrieron mayores cambios, debido a su mayor efecto en los valores de pH en el muy corto plazo. Además existió un claro efecto dosis dependiente en los suelos tratados con ambos tipos de lodo. En el segundo experimento, el efecto fue el contrario y las enmiendas produjeron una reducción del contenido en bicarbonatos solubles del suelo. Esta disminución se ha explicado por la reducción drástica del contenido en agua del suelo por el severo período de sequía estival durante la experimentación. Esta limitación hídrica, combinada con el exceso de carbonato del suelo generó un proceso de recarbonatación secundaria, muy común en zonas mediterráneas (Ruellan, 1999; Serrano-Ortiz et al., 2010). Así, los bicarbonatos solubles pasarían a formar parte de carbonato cálcico insoluble, un hecho que puede ser relevante en la lucha contra el cambio climático, ya que permite el secuestro de carbono en forma insoluble a largo plazo. Este proceso se relaciona con el contenido en agua del suelo la cantidad de  $\text{CO}_2$  en la atmósfera edáfica y los valores de pH. De esta manera, la aplicación de residuos orgánicos biodegradables conllevó un mayor contenido en agua en el suelo, y un aumento de los procesos de respiración del suelo. Estas condiciones, junto con la aridez del momento de la adición, generaron un fuerte proceso de recarbonatación y fijación del bicarbonato soluble en forma de carbonato cálcico insoluble. Además, la mayor concentración de  $\text{CO}_2$  y el mayor contenido en agua de los lodos de depuradora produjeron un mayor efecto que en el caso del compost de residuos sólidos urbanos. Con la llegada de las precipitaciones el proceso se invirtió y el contenido en bicarbonatos se incrementó hasta alcanzar los valores naturales.

Por último, hemos observado cierta relación de las formas inorgánicas de carbono con los valores de respiración del suelo (3). Bertrand et al. (2007) afirma que, en suelos calcáreos enmendados, el 73% de las emisiones de  $\text{CO}_2$  se deben a la respiración mientras que 27% restante se explica por la posible disolución de carbonatos. Por tanto, la importancia del contenido en carbono inorgánico no se puede descartar la hora de explicar las tasas de emisión de  $\text{CO}_2$  en suelos carbonatados.

## **5.2 Efecto de las enmiendas sobre la respiración del suelo**

La aplicación de las enmiendas supuso un aumento neto de las emisiones de  $\text{CO}_2$  del suelo (2 y 13), estos resultados concuerdan con los propuestos por Song (2010). Las

formas de carbono presentes en el lodo tienen un fuerte impacto sobre las tasas de respiración del suelo (González-Ubierna et al., 2012). De hecho, Chen (2010) afirma que el pool de carbono del suelo es un factor determinante sobre las tasas de respiración. Por su parte, Sanderman et al. (2003) puso de manifiesto que las diferencias entre las fracciones de carbono del suelo alteran tanto en la respiración basal como en sus oscilaciones y fluctuaciones.

#### ***5.2.1 ¿Cómo influyen las variables climáticas en el proceso de respiración en el caso particular de un suelo mediterráneo? Variaciones tras la aplicación de los residuos***

Los procesos de respiración del suelo están fuertemente relacionados con las condiciones climáticas (Fang y Moncrieff, 2001). Sin embargo, nuestros resultados y los encontrados por Almagro et al., 2009, muestran que, bajo condiciones climáticas mediterráneas, la dependencia de la respiración frente a la temperatura y la humedad del suelo es menor que en la encontrada en otros estudios desarrollados en climas templados (Davidson et al., 1998; Janssens y Pilegaard, 2003). La aplicación de las enmiendas ha modificado las relaciones entre la respiración y las variables climáticas, debido a la severa perturbación que supone sobre las poblaciones microbianas (Andrés et al., 2011).

Bajo climas mediterráneos, la relación entre temperatura y respiración varía según los regímenes de humedad (Marañón-Jiménez et al., 2011; González-Ubierna et al., 2013b). Este hecho nos ha llevado a poner en cuestión el uso del coeficiente  $Q_{10}$ , ya que bajo condiciones mediterráneas este valor puede tener una amplia variabilidad estacional (Xu and Qi, 2001; Almagro et al., 2009). Nuestros resultados indican que la relación entre temperatura y respiración no sigue modelos lineales, que originan una  $Q_{10}$  constante. Por el contrario, nuestros datos muestran una mayor dependencia de la temperatura cuando el suelo posee contenidos en humedad intermedios, por lo que siguen mejor modelos de tipo Gauss. (Jia et al., 2007) La importancia de los umbrales de humedad sobre las relaciones temperatura-respiración ya ha sido puesta de manifiesto por Almagro et al. (2009) y Lellei-Kovács et al. (2011) en climas áridos o semiáridos. Este modelo ha identificado que las mayores tasas de respiración se produjeron a una temperatura del suelo de 20°C, a una profundidad de 30 cm, (30°C en la superficie), al igual que en los

estudios de O'Connell (1990) y Thierron y Laudelout (1996). La aplicación de enmiendas de residuos orgánicos biodegradables incrementó la dependencia de la respiración frente a la temperatura. Aunque todos los suelos siguen el mismo patrón, el efecto ha sido mayor en el caso de los suelos tratados con lodo anaerobio. Los cambios en la poblaciones provocadas por los lodos pueden explicar, al menos parcialmente, estos efectos (Gondim-Porto, 2012).

La influencia de la humedad en la respiración del suelo es compleja, debido a sus efectos sobre la microbiota del suelo y en el transporte de gases en el interior del perfil del suelo (Fang y Moncrieff, 1999). A diferencia de la temperatura, la humedad del suelo ha mostrado una correlación negativa con la respiración. Skoop et al. (1990) explica este proceso por la ralentización de la difusión del  $\text{CO}_2$  en el perfil del suelo causada por un alto contenido en agua. Otra posible explicación relaciona este efecto con la disolución parcial del  $\text{CO}_2$  en el agua, transformando este gas en bicarbonatos solubles (Rochette et al., 2004). Sin embargo, al igual que mostró Almagro et al. (2009), nuestros resultados detectan un umbral de  $16^\circ\text{C}$ , por encima del cual la relación humedad-respiración es positiva. Este resultado se relaciona con el efecto positivo de la humedad sobre la actividad microbiana del suelo, que es la que produce las emisiones de  $\text{CO}_2$  (Howard y Howard, 1993) de hecho, las mayores tasas de respiración se observaron a humedades medias. Jia et al. (2006) sugiere que, cuando la humedad del suelo es baja, la actividad metabólica aumenta en paralelo con la humedad. Este autor describe la relación humedad-respiración mediante modelos empíricos sencillos. Sin embargo, nuestros resultados se ajustan mejor a un modelo Gaussiano (González-Ubierna et al., 2013b). El modelo mostró un máximo de respiración con un contenido en agua del 17%. Este dato está muy próximo a la capacidad de campo de nuestro suelo (15%), confirmando el resultado encontrado por Luo y Zhou (2006). Al contrario que para la temperatura, la aplicación de las enmiendas produce una reducción de la dependencia de la respiración frente a la humedad. Esto se explica por la mejora en las propiedades físicas del suelo producida tras la enmienda, que favorece la retención de agua, y por la hidrofobicidad del carbono orgánico aportado por las enmiendas (Goebel et al., 2005). Dado que los lodos aerobios son los que afectan de manera más significativa a las propiedades físicas (Ojeda et al., 2008), en este caso la influencia de la humedad es menor

Algunos estudios en climas mediterráneos indican que la variabilidad de la respiración del suelo podría estar relacionada con pulsos de precipitación (Curiel Yuste et al., 2003). La aparición de pulsos de respiración tras un proceso de rehumectación es denominado “efecto Birch” (Birch, 1958), (Fierer y Schimel, 2002). Los procesos de rehumectación desencadenan una serie de procesos que movilizan y metabolizan carbono que de otro modo no estaría disponible (Marañón-Jiménez et al., 2011). El aumento de la respiración del suelo debido al efecto Birch se ha explicado de dos maneras diferentes: por un lado, Appel (1998) o Borker y Matzner (2009) asocian el aumento a la destrucción de los agregados del suelo; por otra parte, Bottner et al. (1998) relaciona el efecto con la biomasa microbiana muerta y la rápida liberación y reasimilación de compuestos hipoosmóticos (Jarvis et al., 2007). Además, en suelos mediterráneos, las comunidades microbianas podrían adaptar su respuesta hipoosmótica a los rápidos cambios en el contenido en agua del suelo (Unger et al., 2010). En nuestro caso de estudio, el efecto Birch fue significativo cuando el suelo presentó humedades intermedias (10-20% de contenido en agua), mientras que el efecto fue menos evidente cuando el contenido en agua fue menor. Esto se puede explicar por la formación de costras superficiales en eventos de precipitación cuando el suelo está muy seco, impidiendo con ello la difusión del  $\text{CO}_2$ . En este caso, la aplicación de las enmiendas favorece el efecto de los pulsos de precipitación sobre la respiración del suelo. Este efecto fue especialmente importante en el caso de los suelos tratados con lodos aerobios que son los que influyeron de una manera más notable en la microbiología del suelo, (Gondim-Porto, 2012).

Sin embargo, en estudios realizados en condiciones de campo, las variables climáticas no actúan individualmente especialmente en sistemas con una alta variabilidad como es el caso del clima mediterráneo. Los resultados obtenidos muestran que, aunque la respiración del suelo estuvo controlada mayoritariamente por la temperatura, esta relación estuvo claramente modulada por el contenido en agua del suelo (Almagro et al., 2009 y Lellei-Kovács et al., 2011). Por tanto, se han probado diferentes modelos empíricos que tengan en cuenta la influencia de las tres variables climáticas. Entre los modelos empíricos probados, el modelo que aportó mejores resultados fue una modificación del modelo propuesto por Martin y Bolstad (2009). En nuestra modificación se ha incluido el efecto de los pulsos de precipitación sobre la respiración, a través del RWi. Nuestro

modelo mostró que bajo condiciones mediterráneas, la respiración del suelo agrícola estuvo controlada por la interacción entre la temperatura y la humedad. Es decir, a diferencia de otros estudios, la respiración del suelo mediterráneo está controlada por la interacción humedad-temperatura, mientras que los patrones de precipitación marcan incrementos en las emisiones de CO<sub>2</sub>. La aplicación de las enmiendas modifica esta relación, y la interacción humedad-temperatura deja de ser el factor determinante, siendo sustituida por el efecto de la temperatura, especialmente en el caso de los suelos tratados con lodos anaerobios.

### ***5.2.2 ¿Cómo se modifican los patrones de respiración tras la aplicación de residuos orgánicos biodegradables?***

#### ***5.2.2.1 Respiración basal del suelo***

La respiración del suelo ha mostrado grandes variaciones estacionales, relacionadas con el papel clave de los factores climáticos en el proceso (Conant et al., 2000; Kechavarzi et al., 2010). Excepto en verano, los factores climáticos han explicado en torno al 50% de la variabilidad en las emisiones de CO<sub>2</sub>, lo que, tal y como han sugerido Webster et al. (2009) o Correia et al. (2012), muestran que existen otros factores que influyen decisivamente en el proceso de respiración. Estos factores son especialmente importantes en el caso de suelos bajo condiciones mediterráneas (Casals et al., 2009).

- En verano las condiciones climáticas han mostrado una fuerte relación con las tasas de respiración. La humedad atmosférica fue el factor principal para explicar la variabilidad en las emisiones de CO<sub>2</sub> en este periodo del año, aunque los máximos de respiración están marcados por la aparición de eventos de precipitación. Sin embargo, los datos muestran un retraso en la respuesta de la respiración ante un evento de precipitación. Gaumont-Guay et al. (2006) sugiere una fuerte histéresis estacional para explicar este hecho.
- En otoño se produjeron las menores emisiones, siguiendo el patrón de disminución de las temperaturas (Asensio et al., 2007). Sin embargo, en otros estudios llevados a cabo en climas mediterráneos (Almagro et al., 2009; Rey et

al., 2002) se indica que las menores tasas de respiración se produjeron en verano por el menor contenido en humedad. En nuestro periodo de experimentación, la temperatura fue el factor que controló las misiones de CO<sub>2</sub> del suelo, siendo además el otoño el período más seco.

- En invierno, a pesar del fuerte aumento de la humedad, las tasas de respiración siguieron siendo bajas condicionadas por las temperaturas mínimas.
- En primavera, la respiración se incrementa según aumenta la temperatura. En este periodo la humedad y la temperatura tuvieron un peso similar a la hora de explicar la variabilidad de la respiración del suelo. Además es donde los pulsos de precipitación tuvieron un mayor peso. Estos resultados coinciden con los encontrados por Marañón-Jiménez et al. (2011).

La principal influencia del contenido en humedad del suelo en la respiración se ha considerado como un factor limitante, debido a su influencia sobre la actividad microbiana (Serrano-Ortiz et al., 2007; Sowerby et al., 2008). Sin embargo, nuestros datos reflejan que la humedad ejerce el mayor efecto sobre la respiración en primavera, aumentando las emisiones de CO<sub>2</sub>, este resultado coinciden con los de Oyonarte et al. (2012). Zhou et al. (2006) describió este efecto positivo de la humedad sobre la respiración cuando el contenido en agua del suelo está próximo a su capacidad de campo.

Por último, hemos observado una fuerte variabilidad intradiaria en la respiración del suelo, relacionada con los contrastes de humedad y temperatura (Shi et al., 2006). Según nuestros resultados esta variabilidad está controlada fundamentalmente por la temperatura del suelo, tal y como han encontrado Davidson et al. (1998) y Flanagan y Johnson (2005). Las menores emisiones de CO<sub>2</sub> se producen al amanecer, mientras que las máximas se dan a mediodía en verano y al atardecer en el resto del año.

#### *5.2.2.2 Efectos de la aplicación de los residuos sobre las emisiones de CO<sub>2</sub>*

En los meses de verano, inmediatamente después de la aplicación de los residuos al suelo, los suelos tratados con lodos de depuradora mostraron tasas de respiración significativamente mayores que los suelos sin tratar y los enmendados con compost



procedente de residuos sólidos urbanos. Este hecho se ha relacionado con los diferentes procesos y grados de compostaje de los residuos. Bernal et al. (1998) sugiere que las tasas de mineralización en el suelo se reducen cuando la enmienda aplicada tiene un largo periodo de compostaje. Por tanto, los residuos con mayor presencia de formas lábiles (lodos de depuradora) poseen tasas de respiración mayores. En los suelos tratados, la respiración estuvo controlada por la humedad y la temperatura del suelo, mientras que en los suelos sin tratar las emisiones de CO<sub>2</sub> estuvieron determinadas mayoritariamente por la temperatura del suelo. Este hecho se puede explicar por la mejora en la capacidad de almacenamiento de agua producida tras las enmiendas (Song, 2010).

En otoño, las bajas temperaturas del suelo indujeron una reducción en las tasas de respiración, este proceso está especialmente reforzado por el extraordinario periodo de aridez otoñal durante el año de experimentación. En este periodo, tan solo los suelos tratados con lodo aerobio mostraron valores de respiración significativamente mayores que los suelos sin tratar. Además, se ha observado un cierto incremento de la relevancia de las formas lábiles, debido a la ralentización de la actividad microbiana en estas condiciones de aridez (González-Ubierna et al., 2012).

En invierno, a pesar del espectacular aumento de la humedad del suelo, la respiración no mostró un aumento significativo ya que la respiración fue limitada por las bajas temperaturas. Estas restrictivas condiciones ambientales hicieron que el efecto de las enmiendas se redujera, no observándose diferencias en las emisiones de CO<sub>2</sub> entre los suelos tratados y los suelos control. Sin embargo, en las medidas efectuadas en las horas centrales del día, si se observaron diferencias entre los suelos tratados y sin tratar, debido a la mejora de las temperaturas durante esa franja del día (González-Ubierna et al., 2013b).

Al inicio de la primavera, todos los suelos incrementaron las emisiones de CO<sub>2</sub>, debido al aumento de las temperaturas y al alto contenido en humedad del suelo. Además, fue en este periodo del año en el que los pulsos de precipitación mostraron mayor influencia sobre los procesos de respiración, especialmente en los suelos enmendados. En este momento, los suelos tratados con lodo aerobio mostraron los menores valores de carbono orgánico total en el suelo de todos los suelos con enmienda, debido a que este tratamiento es el que produjo mayores tasas de mineralización al inicio de la experimentación, tal y como también apuntó Bernal et al (1998). Al finalizar el año

de experimentación, la baja biodisponibilidad de las formas de carbono indujo una notable reducción en la respiración de los suelos tratados con lodo aerobio, eliminando las diferencias con los suelos sin tratar. Por el contrario, los suelos enmendados con lodos anaerobios y con compost de residuos sólidos urbanos sí mostraron valores de respiración superiores a los suelos control, siendo los tratados con compost los que mayores emisiones de CO<sub>2</sub> y carbono orgánico mostraron. Grigatti et al. (2011) explica este comportamiento dado que su alto contenido en formas complejas de carbono, que les confiere un comportamiento más estable a lo largo del año.

En el experimento de dosis crecientes se midió la respiración bimensualmente durante dos años, lo que nos ha permitido estudiar la evolución de la respiración durante el segundo año tras la aplicación. Tras dos años, los suelos enmendados aproximaron sus tasas de respiración a la de los suelos control. Además, se ha observado una reducción en la relevancia de los factores climáticos sobre la respiración a medida que se incrementa la dosis de aplicación. Sin embargo, el carbono orgánico total no es el factor explicativo de la variabilidad de la respiración. Esto refuerza la idea de que tan solo determinadas fracciones del carbono orgánico influyen de manera notable en la respiración del suelo (Dumale et al., 2011; González-Ubierna et al., 2012).

# CONCLUSIONES



## 6 Conclusiones

1. La aplicación de residuos orgánicos biodegradables influye en los constituyentes y propiedades del suelo. Aumenta la materia orgánica y las sales solubles, disminuye el pH, afectando a las propiedades físico-químicas y a los ciclos biogeoquímicos.
2. La aplicación de residuos orgánicos biodegradables al suelo incrementa significativamente el contenido de carbono orgánico en todas las formas estudiadas: carbono soluble, formas lábiles y fracción recalcitrante.
3. Las variaciones estacionales del clima mediterráneo se reflejan en las distintas fracciones del carbono:
  - El contenido en carbono soluble se incrementa en periodos secos cuando son menores los procesos de lixiviación.
  - La proporción de formas lábiles respecto a formas recalcitrantes aumenta en épocas frías, debido a la limitada mineralización. En estos casos, la velocidad de mineralización de formas recalcitrantes, en comparación con la producida sobre las formas lábiles, es más próxima que en épocas cálidas.
4. El tipo de residuo aplicado determina la intensidad de los procesos de humificación y mineralización:
  - La aplicación de lodos frescos de depuradora, con un sistema de digestión aerobia, produce un aumento significativo del proceso de mineralización, por lo que se incrementan las formas lábiles y se reduce el carbono recalcitrante.
  - La aplicación de lodos frescos de depuradora, con un sistema de digestión anaerobia, aportó formas más complejas de carbono. Lo que provocó una ralentización de los procesos de mineralización.

- La aplicación de compost estabilizado térmicamente, procedente de residuos urbanos, incrementa de forma significativa los procesos de humificación, por lo que este tipo de residuo favorece el almacenamiento del carbono en el suelo.
5. Se aprecia un efecto dosis dependiente en el incremento de todas las fracciones de carbono. A bajas dosis de aplicación, el proceso de mineralización de las fracciones lábiles fue mayor.
  6. No se han encontrado evidencias de un aumento significativo de secuestro de carbono en forma inorgánica, aunque se aprecia un fuerte descenso de pH tras la aplicación y una migración de bicarbonato hacia horizontes subyacentes.
  7. La respiración del suelo bajo climas mediterráneos no se ajusta a los modelos lineales generalmente empleados por la comunidad científica en climas templados, debido a que la relación entre temperatura y respiración varía según los regímenes de humedad. Las relaciones entre la respiración y los factores climáticos se ajustan mejor a modelos de tipo Gauss.
  8. La respiración en climas mediterráneos se asocia a pulsos de precipitación. Este efecto, efecto Birch, fue significativo para contenidos de humedad entre 10-20%, mientras que a menores contenidos de humedad es menos evidente
  9. Se observa un cambio de patrón en la respiración del suelo en función del contenido de humedad y temperatura. A temperaturas superiores a 16°C la respiración aumenta con la humedad, mientras que a temperaturas inferiores, al aumentar la humedad, disminuye la respiración.
  10. Proponemos la modificación del modelo de Martin y Bolstad para estimar la respiración el suelo en función de las variables climáticas.

11. La aplicación de residuos orgánicos biodegradables modifica las relaciones entre la respiración y los factores climáticos, incrementándose la preponderancia de la temperatura frente a la humedad, y potencia el efecto de los pulsos de precipitación.

- La relevancia de los factores climáticos sobre la respiración se reduce a medida que se incrementa la dosis de aplicación.

12. Se sugieren las siguientes recomendaciones para una gestión sostenible de la aplicación al suelo de residuos orgánicos biodegradables:

- Es preferible el uso de residuos estabilizados térmicamente que la utilización de lodos frescos de depuradora.
- En el caso de usar lodos frescos, se aconseja el uso de lodos procedentes de depuradoras con tratamiento anaerobio en su línea de lodos.
- Con el fin de evitar emisiones significativas de CO<sub>2</sub>, se aconseja usar dosis menores de 40 Mg ha<sup>-1</sup> en períodos con temperatura media inferior a 16°C y bajas precipitaciones.





## Conclusione

1. L'applicazione di rifiuti organici biodegradabili al suolo influisce nei costituenti e le proprietà del suolo. Aumenta la materia organica e le sale solubili, ed riduce il pH, modificando le proprietà fisico-chimiche ed i cicli biogeochimici del suolo.
2. L'applicazione di rifiuti organici biodegradabili al suolo aumenta significativamente il contenuto di carbonio organico in tutte le forme studiate: carbonio solubile, frazione labile e recalcitrante.
3. Le variazioni stagionali del clima mediterraneo si hanno riflesso nelle diverse frazioni di carbonio:
  - Il contenuto di carbonio solubile aumenta nei periodi di siccità, quando i processi di lisciviazione sono inferiori.
  - Il rapporto tra le forme recalcitranti ed labili aumenta nei periodi freddi, a causa della limitata mineralizzazione. In questi casi, il tasso di mineralizzazione delle forme recalcitranti rispetto a quella prodotta sulle forme labili è più simile che nei periodi caldi.
4. Il tipo di rifiuto applicato determina l'intensità dei processi di umificazione e mineralizzazione:
  - L'applicazione di fanghi di depurazione freschi, con un sistema di digestione anaerobica, provoca un aumento significativo del processo di mineralizzazione, così le forme labili sono aumentate e si riduce il carbonio recalcitrante.
  - L'applicazione di fanghi di depurazione freschi, con un sistema di digestione anaerobica, contribuisce con forme più complesse di carbonio. Causando un rallentamento dei processi di mineralizzazione.
  - L'applicazione di compost di rifiuti solidi urbani stabilizzato termicamente, provoca un aumento significativo dei processi di umificazione, per cui

questo tipo di rifiuti favorisce lo stoccaggio del carbonio nel suolo.

5. È stato mostrato un effetto dose-dipendente del aumento di carbonio nel suolo su tutte le frazioni. A basse dosi di applicazione il processo di mineralizzazione delle frazioni labili fu maggiore.
6. Nessuna prova è stata trovata su un aumento significativo del sequestro di carbonio in forma inorganica, anche se c'è un forte calo di pH dopo l'applicazione, e una migrazione di bicarbonato negli orizzonti sottostanti.
7. I modelli lineari generalmente utilizzati dalla comunità scientifica nei climi temperati non servono per spiegare la respirazione del suolo nel clima mediterraneo, perché il rapporto tra temperatura e la respirazione varia con i regimi di umidità. La relazione tra la respirazione e i fattori climatici si adatta meglio ai modelli di tipo gaussiano.
8. La respirazione in climi mediterranei è stata messa in relazione con i polsi di precipitazioni. Questo effetto, Birch affect, è stato significativo per un contenuto di umidità tra il 10-20%, mentre a contenuti di umidità più bassi l'effetto è stato meno evidente.
9. C'è un cambiamento nel pattern respiratorio in funzione del contenuto di umidità del suolo e dalla temperatura. A temperature superiori ai 16°C, la respirazione aumenta con l'umidità, mentre a temperature più basse l'aumento dell'umidità riduce la respirazione del suolo.
10. Proponiamo la modifica del modello di Martin & Bolstad per stimare la respirazione del suolo a seconda delle variabili climatiche.
11. L'applicazione di rifiuti organici biodegradabili cambia il rapporto tra respirazione e fattori climatici, aumentando la preponderanza dalla temperatura verso la umidità, ed si arricchisce l'effetto delle precipitazioni.

- L'importanza dei fattori climatici sulla respirazione si riduce con l'aumento delle tase di applicazione.

12. Vi consigliamo i seguenti raccomandazioni per la gestione sostenibile dalla applicazione di rifiuti organici biodegradabili al suolo:

- È preferibile utilizzare i rifiuti stabilizzati termicamente che usare fanghi di depurazione fresca.
- Nel caso di utilizzare fanghi freschi, si consiglia l'utilizzo dei fanghi di depurazione prodotti in piante depuratore con trattamento anaerobico dei fanghi nella loro linea.
- Al fine di evitare notevoli emissioni di CO<sub>2</sub>, si consiglia di utilizzare dosi più basse di 40 Mg ha<sup>-1</sup> ed in periodi con temperature sotto 16°C e scarse precipitazioni.



# BIBLIOGRAFÍA



## 7 Bibliografía

- Aber, J.D., Nadelhoffer, K.J., Steudler, P., Melillo, J.M. (1989). Nitrogen saturation in northern forest ecosystem: excess nitrogen from fossil fuel combustion may stress the biosphere. *BioScience* 39: 378-386.
- Achiba, W.B., Gabteni, N., Lakhdar, A., Laing, G.D., Verloo, M., Jedidi, N., Gallali, T. (2009). Effects of 5-year application of municipal solid waste compost on the distribution and mobility of heavy metals in a Tunisian calcareous soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 130: 156-163.
- Actis, G., Luzzatti, A., Marchesini, A., Siragusa, N., Milazzo, G. (1981). Compost Derived from the Bioconversion of Urban Wastes. *Studies in Environmental Science* 9: 163-171.
- Adu, J.K., Oades J.M. (1978). Physical factors influencing decomposition of organic materials in soil aggregates. *Soil Biology and Biochemistry* 10 (2): 109-115
- Aggelides, S.M., Londra, P.A. (2000). Effects of compost produced from town wastes and sewage sludge on the physical properties of a loamy and a clay soil. *Bioresource Technology* 71: 253-259.
- Agren, G.I., McMurtrie, R.E., Parton, W.J., Pastor, J., Shugart H.H. (1991). State-of-the-art models of production-decomposition linkages in conifer and grassland ecosystems. *Ecological Applications* 1: 118-138.
- Ajwa, H.A., Tabatai, M.A. (1994). Decomposition of different organic materials in soils. *Biology and Fertility of Soils* 18: 175-182.
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F. (2001). Organic matter components, aggregate stability and biological activity in a horticultural soil fertilized with different rates of two sewage sludges during ten years. *Bioresource Technology* 77(2):109-114
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F. (2000). Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology* 75: 43-48.
- Allison, L.E., Moodie, C.D. (1965). In: *Methods of soil analysis*, (Ed.): C.A. Black Part 2: Chemical and microbiological properties. American Society and Agronomy, Madison, Wisconsin. pp. 1379-1396.
- Almagro, M., López J., Querejeta J.I., Martínez-Mena, M. (2009). Temperature dependence of soil CO<sub>2</sub> efflux is strongly modulated by seasonal patterns of moisture availability in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 594-605.
- Alvarenga, P., Gonçalves, A.P., Fernandes, R.M., de Varennes, A., Vallini, G., Duarte, E., Cunha-Queda, A.C. (2009). Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization: (I) Effects on soil chemical characteristics. *Chemosphere* 74(10): 1292-1300.
- Alvarez, C.R., Alvarez, R., Grigera, M.S., Lavado, R.S. (1998). Associations between organic matter fractions and the active soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 30(6): 767-773.
- Alvarez, R., Lidén, G. (2008). Semi-continuous co-digestion of solid slaughterhouse waste, manure, and fruit and vegetable waste. *Renewable Energy* 33(4): 726-734.
- Andren, O., Schnurer, J. (1985). Barley straw decomposition with varied levels of microbial grazing by *Folsomia fimetaria* (L.) (*Collembola Isotomidae*). *Oecologia* 68: 57-62.

- Andrés, P., Mateos, E., Tarrasón, D., Cabrera, C., Figuerola, B. (2011). Effects of digested, composted, and thermally dried sewage sludge on soil microbiota and mesofauna. *Applied Soil Ecology* 48: 236–242.
- Antolín, M.C., Pascual, I., García, C., Polo, A., Sánchez-Díaz, M. (2005). Growth, yield and solute content of barley in soils treated with sewage sludge under semiarid Mediterranean conditions. *Field Crops Research* 94(2-3): 224-237.
- Aparicio, I., Santos, J.L., Alonso, E. (2009). Limitation of the concentration of organic pollutants in sewage sludge for agricultural purposes: A case study in South Spain. *Waste Management* 29: 1747–1753.
- Appel, T. (1998). Non-biomass soil organic N — the substrate for N mineralization flushes following soil drying–rewetting and for organic N rendered CaCl<sub>2</sub>-extractable upon soil drying. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 1445–1456.
- Arnaiz, C., Gutierrez, J.C., Lebrato J. (2006). Biomass stabilization in the anaerobic digestion of wastewater sludges. *Bioresource Technology* 97: 1179–1184.
- Aryal, N., Reinhold, D.M. (2011). Phytoaccumulation of antimicrobials from biosolids: Impacts on environmental fate and relevance to human exposure. *Water Research* 45: 5545-5552.
- Asensio, D., Penuelas, J., Ogaya, R., Llusia, J. (2007). Seasonal soil and leaf CO<sub>2</sub> exchange rates in a Mediterranean holm oak forest and their responses to drought conditions. *Atmospheric Environment* 41: 2447–2455.
- Ashagrie, Y., Zech, W., Guggenberger, G., Mamo, T. (2007). Soil aggregation, and total and particulate organic matter following conversion of native forests to continuous cultivation in Ethiopia. *Soil and Tillage Research* 94: 101–108.
- Ashworth, D.J., Alloway, B.J. (2004). Soil mobility of sewage sludge-derived dissolved organic matter, copper, nickel and zinc. *Environmental pollution* 127 (1): 137-144.
- Aubain, P., Gazzo, A., Le Moux, J., Mugnier, E., Brunet, H., Landrea, B. (2002). Disposal and recycling routes for sewage sludge. Synthesis Report. Report for the EU Commission.
- Bacastow, R., Keeling, C.D. (1973). Atmospheric carbon dioxide and radiocarbon in the natural carbon cycle. II, Changes from A.D. 1700 to 2070 as deduced from a geochemical reservoir. En: Woolwell, G.M., Pecan, E.V. (Eds.) *Carbon in the biosphere*, U.S. Department of Commerce, Springfield, Virginia, USA, pp 86-135.
- Baham, J., Sposito, G. (1994). Adsorption of dissolved organic carbon extracted from sewage sludge on mont-morillonite and kaolinite in the presence of metal ions. *Journal of Environmental Quality* 23: 147–153.
- Balogh, J., Pintér, K., Fóti, S.Z., Cserhalmi, D., Papp, M., Nagy, Z. (2011). Dependence of soil respiration on soil moisture, clay content, soil organic matter, and CO<sub>2</sub> uptake in dry grasslands. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1006-1013.
- Banegas, V., Moreno, J.L., Moreno, J.I., García, C., León, G., Hernández, T. (2007). Composting anaerobic and aerobic sewage sludges using two proportions of sawdust. *Waste Management* 27: 1317–1327.
- Bastida, F., Moreno, J.L., García, C., Hernández, T. (2007). Addition of Urban Waste to Semiarid Degraded Soil: Long-term Effect. *Pedosphere* 17(5):557-567
- Batjes, N.H. (1996). Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *European Journal of Soil Science* 47: 151–163.



- Batjes, N.H. (1998). Mitigation of atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations by increased carbon sequestration in the soil. *Biology and Fertility of Soils* 27(3): 230-235.
- Battle, M., Bender, M., Sowers, T., Tans, P.P., Butler, J.H., Elkins, J.T., Conway, J.T., Zhang, N., Lang, P., Clarke, A.D. (1996). Atmospheric gas concentrations over the past century measured in air from firn at the South Pole. *Nature* 383: 2312-2315.
- Beck, A.J., Johnson, D.L., Jones, K.C. (1996). The form and bioavailability of non-ionic organic chemicals in sewage sludge-amended agricultural soils *Science of The Total Environment* 185(1-3): 125-149.
- Bellamy, P.H., Loveland, P.J., Bradley, R.I., Lark, M., Kirk, G.J.D. (2005). Carbon losses from all soils across England and Wales 1978–2003. *Nature* 437: 245–248.
- Bernal, M.P., Navarro, A.F., Sánchez-Monedero, M.A., Roig, A., Cegarra, J. (1998). Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 30(3): 305-313.
- Bernal, M.P., Roig, A., Lax, A., Navarro, A.F. (1992). Effects of the application of pig slurry on some physico-chemical and physical properties of calcareous soils. *Bioresource Technology* 42(3): 233-239.
- Bertrand, I., Delfosse, O., Mary, B. (2007). Carbon and nitrogen mineralization in acidic, limed and calcareous agricultural soils: Apparent and actual effects. *Soil Biology and Biochemistry* 39(1):276-288.
- Birch, H.F. (1958). Further aspects of humus decomposition. *Nature* 182, 1172.
- Blagodatskaya, E., Kuzyakov, Y. (2008). Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: critical review. *Biology and Fertility of Soils*, 45: 115-131.
- Blagodatskaya, E., Yuyukina, T., Blagodatsky, S., Kuzyakov, Y. (2011.) Three-source-partitioning of microbial biomass and of CO<sub>2</sub> efflux from soil to evaluate mechanisms of priming effects. *Biology and Biochemistry* 43: 778-786.
- Blagodatsky, S., Blagodatskaya, E., Yuyukina, T., Kuzyakov, Y. (2010). Model of apparent and real priming effects: linking microbial activity with soil organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1275-1283.
- Bodzek, D., Janoszka, B., Dobosz, C., Warzecha, L., Bodzek, M. (1997). Determination of polycyclic aromatic compounds and heavy metals in sludges from biological sewage treatment plants. *Journal of Chromatography. A* 774: 177–192.
- Bol, R., Kandeler, E., Amelung, W., Glaser, B., Marx, M.C., Preedy, N., Lorenz, K. (2003). Short-term effects of dairy slurry amendment on carbon sequestration and enzyme activities in a temperate grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 35(11): 1411-1421.
- Bontoux, L., Veja, M., Papameletiou, D. (1998). Urban wastewater treatment in Europe: what about the sludge? IPTS Report, April 1998, p. 5.
- Boone, R.D., Nadelhoffer, K.J., Canary, J.D., Kaye, J.P. (1998). Roots exert a strong influence on the temperature sensitivity of soil respiration. *Nature* 396: 570–572.
- Borken, W., Matzner, E. (2009). Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils. *Global Change Biology* 15: 808-824.
- Bottner, P., Austrui, F., Cortez, J., Billes, G., Coûteaux, M.M. (1998). Decomposition of <sup>14</sup>C and <sup>15</sup>N labelled plant material, under controlled conditions, in coniferous forest soils from a northsouth climatic sequence in western Europe. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 597-610.

- Boucot, A.J., Gray, J. (2001). A critique of Phanerozoic climatic models involving changes in the CO<sub>2</sub> content of the atmosphere. *Earth-Science Reviews* 56: 1–159.
- Bowden, R.D., Nadelhoffer, K.J., Boone, R.D., Melillo, J.M., Garrison, J.B. (1993). Contributions of aboveground litter, belowground litter, and root respiration to total soil respiration in a temperature mixed hardwood forest. *Canadian Journal of Forest Research* 23: 1402–1407.
- Bradford, M.A., Fierer, N., Reynolds, J.F. (2008). Soil carbon stocks in experimental mesocosms are dependent on the rate of labile carbon, nitrogen and phosphorus inputs to soils. *Functional Ecology* 22: 964–974.
- Brady, N.C., Weil, R.R. (1999). Soil organic matter. The nature and properties of soils. 12<sup>th</sup> ed. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, New Jersey, 446–489.
- Brock, T.D. (1987). The study of microorganisms in situ: progress and problems. In: Fletcher, M., Gray, T.R., Jones, J.G. (Eds.), *Ecology of Microbial Communities*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1–17.
- Brooks, J.P., Tanner, B.D., Josephson, K.L., Gerba, C.P., Haas, C.N., Pepper, I.L. (2005). A national study on the residential impact of biological aerosols from the land application of biosolids. *Journal of Applied Microbiology* 99: 310–322.
- Bryant, E. (1997). *Climate process and change*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. p. 209.
- Burgos, P., Madejón, P., Cabrera, F., Madejón, E. (2010). By-products as amendment to improve biochemical properties of trace element contaminated soils: Effects in time. *International Biodeterioration and Biodegradation* 64(6): 481–488.
- Byrne, A.K., Kiely, G., Leahy, P. (2005). CO<sub>2</sub> fluxes in adjacent new and permanent temperate grasslands. *Agriculture and Forest Meteorology* 135: 82–92.
- Cai, Q.Y., Mo, C. H., Wu, Q.T., Zeng, Q.Y., Katsoyiannis, A. (2007). Concentration and speciation of heavy metals in six different sewage sludge-composts. *Journal of Hazardous Materials* 147 (3): 1063–1072.
- Cai, Q.Y., Mo, C.H., Wu, Q.T., Zeng, Q.Y., Katsoyiannis, A. (2007). Occurrence of organic contaminants in sewage sludges from eleven wastewater treatment plants, China. *Chemosphere* 68: 1751–1762.
- Casado-Vela, J., Sellés, S., Díaz-Crespo, C., Navarro-Pedreño, J., Mataix-Beneyto, J., Gómez, I. (2007). Effect of composted sewage sludge application to soil on sweet pepper crop (*Capsicum annuum* var. *annuum*) grown under two exploitation regimes. *Waste Management* 27(11): 1509–1518.
- Casals, P., Gimeno, C., Carrara, A., López-Sangil, L., Sanz, M.J. (2009). Soil CO<sub>2</sub> efflux and extractable organic carbon fractions under simulated precipitation events in a Mediterranean Dehesa. *Soil Biology and Biochemistry*. 41: 1915–1922
- Casermeiro, M.A., Castaño, S., de la Cruz, M.T., García-Montero, L.G., Hernando, M.I., Navarro-García, F. (2007). Metodología para estudiar el impacto sobre el cambio climático de la aplicación de lodos de depuradora al suelo. Efectos en el secuestro de carbono. in: Casermeiro, M.A., Espluga, A.P., Desdentado, L. D., Díaz M., García-Montero, L.G., Sobrini, I. Andrés, M. (Ed.), *Evaluación de Impacto Ambiental en España: nuevas perspectivas*. Asociación Española de EIA, Madrid, pp. 29–34.
- CEC. (1991). Council of the European Communities. Council Directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources (91/676/ EEC). *Official Journal of European Communities Legislation* 375: 1–8.

- CEC. (2008). Council of the European Communities. Council Directive of 19 November 2008 on waste and repealing certain Directives (2008/98/EC). Official Journal of European Communities Legislation 312: 3-29.
- CEC. Commission of European Communities (1991a). Council Directive 91/156/EEC of March 1991 amending Directive 75/442/EEC on waste. Official Journal of European Community 78: 32-37.
- CEC. Commission of European Communities (1991b). Council Directive 91/692/EEC of 23 December 1991 standardizing and rationalizing reports on the implementation of certain Directives relating to the environment. Official J. Eur. Commun. 377: 48-54.
- CEC. Commission of European Communities (1999). Council Directive 99/31/EC of 26 April 1999 on the landfill of waste. Official Journal of European Community 182: 1-19.
- CEC. Commission of European Communities. (1975). Council Directive 75/442/EEC of 15 July 1975 on waste. Official Journal of European Community 94: 39-41.
- CEC. Commission of European Communities. (1978). Council Directive 78/319/EEC of 20 March 1978 on toxic and dangerous waste. Official Journal of European Community 84: 43-48.
- CEC. Commission of European Communities. (1986). Council Directive 86/278/EEC of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. Official Journal of European Community 181: 6-12.
- CEC. Commission of European Communities. (1991b). Council Directive 91/271/EEC of 21 May 1991 concerning urban waste-water treatment. Official Journal of European Community 135: 40-52.
- CEC. Commission of European Communities. (2000). Working document on sludge, 3rd draft. ENV.E3/LM. European Commission, Bruxelles 27 April 2000.
- Chang, R., Fu, B., Liu, G., Wang, S., Yao, X. (2012). The effects of afforestation on soil organic and inorganic carbon: A case study of the Loess Plateau of China. *Catena* 95: 145-152.
- Chantigny, M.H., Rochette, P., Angers, D.A. (2001) Short-term C and N dynamics in a soil amended with pig slurry and barley straw. *Canadian Journal of Soil Science* 81: 131-137.
- Chen, S., Huang, Y., Zou, J., Shen, Q., Hu, Z., Qin, Y., Chen, H., Pan, G. (2010). Modeling interannual variability of global soil respiration from climate and soil properties. *Agriculture and Forest Meteorology* 150(4): 590-605.
- Cheng, H., Xu, W., Liu, J., Zhao, Q., He, Y., Chen, G. (2007). Application of composted sewage sludge (CSS) as a soil amendment for turfgrass growth. *Ecological engineering* 29: 96-104.
- Clarke, B.O., Smith, S.R. (2011). Review of 'emerging' organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosólidos. *Environment International* 37: 226-247.
- Clarke, B.O., Porter, N.A., Marriott, P.J., Blackbeard, J.R. (2010). Investigating the levels and trends of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl in sewage sludge. *Environmental International* 36: 323-9.
- Conant, R.T., Dalla-Betta, P., Klopatek, C.C., Klopatek, J.M. (2004). Controls on soil respiration in semiarid soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36(6): 945-951.
- Conant, R.T., Klopatek, J.M., Klopatek, C.C. (2000). Environmental factors controlling soil respiration in three semiarid ecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 64 (1): 383-390.

- Conant, R.T. (2010). Challenges and opportunities for carbon sequestration in grassland systems: a technical report on grassland management and climate change mitigation. Prepared for the Plant Production and Protection Division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Integrated Crop Management 9. ISBN 978-92-5-106494-8.
- Conant, R.T., Dalla-Betta, P., Klopatek, C.C., Klopatek, J.M. (2004). Controls on soil respiration in semiarid soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36(6): 945-951.
- Conant, R.T., Klopatek, J.M., Klopatek, C.C. (2000). Environmental factors controlling soil respiration in three semiarid ecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 64(1): 383-390.
- Correa, R.S., White, R.E., Weatherley, A.J. (2006). Risks of nitrate leaching from two soils amended with biosolids. *Water Research* 33: 453-463.
- Correia, A.C., Minunno, F., Caldeira, M.C., Banza, J., Mateus, J., Carneiro, M., Wingatec, L., Shvalevad, A., Ramosa, A., Jongena, M., Bugalho, M.N., Nogueiraa, C., Lecomtea, X., Pereira, J.S. (2012). Soil water availability strongly modulates soil CO<sub>2</sub> efflux in different Mediterranean ecosystems: Model calibration using the Bayesian approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 161: 88-100.
- Council Directive 86/278/EEC of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture.
- Curiel Yuste, J., Janssens, I.A., Carrara, A., Meiresonne, L., Ceulemans, R. (2003). Interactive effects of temperature and precipitation on soil respiration in a temperate maritime pine forest. *Tree Physiology* 23: 1263-1270.
- Davidson, E.A., Belk, E., Boone, R.D. (1998) Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest. *Global Change Biology* 4: 217-227
- Davidson, E.A., Janssens, I.A. (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440: 165-173.
- Davidson, E.A., Savage, K., Verchot, L.V., Navarro, R. (2002). Minimizing artifacts and biases in chamber-based measurements of soil respiration. *Agriculture and Forest Meteorology* 113: 21-37.
- Davidson, E.A., Trumbore, S.E., Amundson, R. (2000). Soil warming and organic carbon content. *Nature* 408: 789-790.
- Deng, Q., Zhou, G., Liu, J., Liu, S., Duan, H., Zhang, D. (2010). Responses of soil respiration to elevated carbon dioxide and nitrogen addition in young subtropical forest ecosystems in China. *Biogeoscience* 7: 315-328.
- Dere, A.L., Stehouwer, R.C. (2011). Labile and Stable Nitrogen and Carbon in Mine Soil Reclaimed with Manure-Based Amendments. *Soil Science Society of America Journal* 75(3): 890-897.
- Devkota, B., Schmidt, G.H. (2000). Accumulation of heavy metals in food plants and grasshoppers from the Taigetos Mountains, Greece. *Agriculture and Ecosystem Environment* 78:85-91.
- Díaz-Hernández, J.L., Barahona-Fernández, E., Linares-González, J. (2003). Organic and inorganic carbon in soils of semiarid regions: a case study from the Guadix-Baza basin (Southeast Spain). *Geoderma* 114:65- 80
- Doelsch, E., Masion, A., Cazevieuille, P., Condom, N. (2009). Spectroscopic characterization of organic matter of a soil and vinasse mixture during aerobic or anaerobic incubation. *Waste Management* 29(6): 1929-1935.

- Dube, E., Chiduza, C., Muchaonyerwa, P. (2012). Conservation agriculture effects on soil organic matter on a Haplic Cambisol after four years of maize–oat and maize–grazing vetch rotations in South Africa. *Soil and Tillage Research* 123: 21-28.
- Dumale, W.A. Jr., Miyazaki, T., Nishimura, T., Seki, K. (2011). Short-Term Dynamics of the Active and Passive Soil Organic Carbon Pools in a Volcanic Soil Treated With Fresh Organic Matter. *E-International Scientific Research Journal* 3 (2): 128.
- EC. European Commision. DG Environment. (2004). Preliminary Impact Assessment for an Initiative on the Biological Treatment of Biodegradable Waste. Final Study Report. 16 December, 2004. European Commission. Luxembourg.
- EC. European Commision. DG Environment. (2008). Environmental, economic and social impacts of the use of sewage sludge on land. 23 October, 2001. prepared by Milieu Ltd, WRc and RPA for the European Commission, DG Environment under Study Contract DG ENV.G.4/ETU/2008/0076r.
- EC. European Commision. DG Environment. (2010). Communication from the commission to the council and the European Parliament on future steps in bio-waste management in the European Union. Brussels, 18.5.2010. COM(2010)235 final
- Eickhorst, T., Tippkötter, R. (2008). Detection of microorganisms in undisturbed soil by combining fluorescence in situ hybridization (FISH) and micropedological methods. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1284–1293.
- Elliott, E.T. (1986). Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils. *Soil Science Society Americal Journal* 50: 627–633.
- Emmerich, W.E. (2003). Carbon dioxide fluxes in a semiarid environment with high carbonate soils. *Agricultural and Forest Meteorology* 116: 91–102.
- Epron, D., Le Dantec, V., Dufrene, E., Granier, A. (2001). Seasonal dynamics of soil carbon dioxide efflux and simulated rhizosphere respiration in a beech forest. *Tree Physiology* 21: 145–152.
- Eswaran, H., Van den Berg, E., Reich, P., Kimble, J. (1995). Global soil carbon resources. In: Lal, R., Kimble, J.M., Levine, E., Stewart, B.A. (Eds.), *Soils and Global Change. Advances in Soil Science*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 27–44.
- Fang, C., Moncrieff, J.B. (1999). A model for soil CO<sub>2</sub> production and transport. 1: model development. *Agriculture and Forest Meteorology* 95: 225-236.
- Fang, C., Moncrieff, J.B. (2001). The dependence of soil CO<sub>2</sub> efflux on temperature. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 155-165.
- Fangueiro, D., Chadwick, D., Dixon, L., Bol, R. (2007). Quantification of priming and CO<sub>2</sub> emission sources following the application of different slurry particle size fractions to a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry* 39(10): 2608-2620.
- FAO. (2006). World reference base for soil resources (2006) A framework for international classification, correlation and communication. FAO, Roma, p 145.
- Fernandes. S.A.P., Bettiol, W., Clementi, C. (2005). Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Applied Soil Ecology* 30: 65–77.
- Fernández, J.M., Hernández, D., Plaza, C., Polo, A. (2007b). Organic matter in degraded agricultural soils amended with composted and thermally-dried sewage sludges. *Science of the Total Environment* 378(1-2): 75-80.

- Fernández, J.M., Plaza, C., Hernández, D., Polo, A. (2007a). Carbon mineralization in an arid soil amended with thermally-dried and composted sewage sludge. *Geoderma* 137:497-503
- Fernández, J. M., Plaza, C., García-Gil, J.C., Polo, A. (2009). Biochemical properties and barley yield in a semiarid Mediterranean soil amended with two kinds of sewage sludge. *Applied Soil Ecology* 42 (1): 18-24.
- Ferreras, L., Gomez, E., Toresani, S., Firpo, I.S., Rotondo, R. (2006). Effect of organic amendments on some physical, chemical and biological properties in a horticultural soil. *Bioresource Technology* 97(4): 635-640.
- Fierer, N., Schimel, J.P. (2002). Effects of drying–rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 777–787.
- Fioletto, A., Papa, S., Pellegrino, A., Ferrigno, A. (2006). Microbial activities in soils of a Mediterranean ecosystem in different successional stages. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 2061–2068.
- Flanagan, L.B., Johnson, B.G. (2005). Interacting effects of temperature, soil moisture and plant biomass production on ecosystem respiration in a northern temperate grassland. *Agriculture and Forest Meteorology* 130: 237–253.
- Flavel, T.C., Murphy, D.V., Lalor, B.M., Fillery, I.R.P. (2005). Gross N mineralization rates after application of composted grape marc to soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37(7): 1397-1400.
- Flores-Céspedes, F., Fernández-Pérez, M., Villafranca-Sánchez, M., González-Pradas, E. (2006). Cosorption study of organic pollutants and dissolved organic matter in a soil. *Environmental Pollution* 142: 449-456.
- Florido, M.A.D.C., Madrid, F., Madrid, L. (2011). Effect of an organic amendment on availability and bio-accessibility of some metals in soils of urban recreational areas. *Environmental Pollution* 159(2): 383-390.
- Franco-Otero, V.C., Soler-Rovira, P., Hernández, D., López-De-Sá, E., Plaza, C.S. (2011). Short-term effects of organic municipal wastes on wheat yield, microbial biomass, microbial activity, and chemical properties of soil. *Biology and Fertility of Soils* 48: 205-216.
- Fyttili, D., Zabaniotou, A. (2008). Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods—A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 12: 116–140.
- García-Orenes, F., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Navarro-Pedreño, J., Gómez, I., Mataix-Beneyto, J. (2005). Factors controlling the aggregate stability and bulk density in two different degraded soils amended with biosolids. *Soil and Tillage Research* 82(1): 65-76.
- García-Pausas, J., Paterson, E. (2011). Microbial community abundance and structure are determinants of soil organic matter mineralisation in the presence of labile carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1705-1713.
- Gaskin, J.W., Brobst, R.B., Miller, W.P., Tollner, W.E. (2003). Long-term biosolids application effects on metal concentrations in soil and bermudagrass forage. *Journal of Environmental Quality* 32: 146–152.
- Gaumont-Guay, D., Black, T.A., Griffis, T.J., Barr, A.G., Jassal, R.S., Nesic Z. (2006). Interpreting the dependence of soil respiration on soil temperature and water content in a boreal aspen stand. *Agriculture and Forest Meteorology* 140: 220–235.
- Giardina, C.P., Ryan, M.G. (2000). Evidence that decomposition rates of organic carbon in mineral soil do not vary with temperature. *Nature* 404: 858-861.

- Gibson, R., Wang, M.J., Padgett, E., Beck, A.J. (2005). Analysis of 4-nonylphenols, phthalates, and polychlorinated biphenyls in soils and biosolids. *Chemosphere* 61(9): 1336-1344.
- Gile, L.H., Hawley, J.W., Grossman, R.B. (1981). Soils and geomorphology in the basin and range area of southern New Mexico—guidebook to the desert project. In: New Mexico Bureau of Mines and Mineral Resources, Memoir 39. Socorro, New Mexico, p. 222
- Giorgi, F. (2006). Climate change Hot-spots. *Geophysical Research Letters*, 33: p, L08707.
- Goebel, M.O., Bachmann, J., Woche, S.K., Fischer, W.R. (2005). Soil wettability, aggregate stability, and the decomposition of soil organic matter. *Geoderma*. 128: 80-93.
- Gondim-Porto, C. (2012). Análisis microbiológico de un suelo agrícola mediterráneo tras la aplicación de lodos de depuradora urbana. PhD Thesis, Universidad Complutense de Madrid, 2012 (España) 241 pp.
- González, M., Gómez, E., Comese, R., Quesada, M., Conti, M. (2010). Influence of organic amendments on soil quality potential indicators in an urban horticultural system. *Bioresource Technology* 101(22): 8897-8901.
- González-Ubierna, S., de la Cruz, M.T., Casermeiro, M.A. (2013b). Soil respiration in a Mediterranean agricultural land: effects of soil temperature and moisture across scales. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. In press.
- González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., Carrero-González, B., de la Cruz, M. T. and Casermeiro, M. A. (2012). Soil organic matter evolution after the application of high rates of organic amendments in a Mediterranean calcareous soil. *Journal of Soils and Sediments* 12 (8): 1257-1268.
- González-Ubierna, S., Jorge-Mardomingo, I., Cruz, M.T., Valverde, I. and Casermeiro, M.A. (2013). Sewage sludge application on Mediterranean agricultural soil: dose effects upon soil carbon cycle. *International Journal of Environmental Research*. In Press
- Graber, E.R., Gerstl, Z., Fischer, E., Mingelgrin, U. (1995). Enhanced transport of atrazine under irrigation with effluent. *Soil Science Society America Journal* 59: 1513–1519.
- Grigatti, M., Di Girolamo, G., Chincarini, R., Ciavatta, C., Barbanti, L. (2011). Potential nitrogen mineralization, plant utilization efficiency and soil CO<sub>2</sub> emissions following the addition of anaerobic digested slurries. *Biomass and Bioenergy* 35 (11): 4619-4629.
- Guang-Ming, L., Jing-Song, Y., Rong-Jiang, Y. (2006). Electrical Conductivity in Soil Extracts: Chemical Factors and Their Intensity. *Pedosphere* 16(1): 100-107.
- Guggenberger, G., Kaiser, K. (2003). Dissolved organic matter in soil: challenging the paradigm of sorptive preservation. *Geoderma* 113: 293-310.
- Habteselassie, M.Y., Miller, B.E., Thacker, S.G., Stark, J.M., Norton, J.M. (2006). Soil nitrogen and nutrient dynamics alter repeated application of treated dairy-waste. *Soil Science Society America Journal* 70: 1328-1337.
- Hansen, J.A., Tjell, J.C. (1983). Sludge application to land—overview of the cadmium problem. In *Environmental Effects of Organic and Inorganic Contaminants in Sewage Sludge*, ed. R.D. Davis, C. Hucker & P. L'Hiermite. Reidel Publishing Company, Dordrecht, pp. 91-113.
- Harvey, O.R., Kuo, L.J., Zimmerman, A.R., Louchouart, P., Amonette, J.E., Herbert, B.E. (2012). An Index-Based Approach to Assessing Recalcitrance and Soil Carbon Sequestration Potential of Engineered Black Carbons (Biochars). *Environmental Science Technology* 46 (3): 1415–1421
- Haynes, R.J., Murtaza, G., Naidu, R. (2009). Inorganic and Organic Constituents and Contaminants of Biosolids: Implications for Land Application. *Advances in Agronomy* 104: 165-267.

- Hemmat, A., Aghilinategh, N., Rezainejad, Y., Sadeghi, M. (2010). Long-term impacts of municipal solid waste compost, sewage sludge and farmyard manure application on organic carbon, bulk density and consistency limits of a calcareous soil in central Iran. *Soil and Tillage Research* 108 (1-2): 43-50.
- Heras, J., Manas, P., Labrador, J. (2005). Effects of several applications of digested sewage sludge on soil and plants. *Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 40: 437-451.
- Hernández-Apaolaza, L., Gascá, J.M., Guerrero, F. (2000). Initial organic matter transformation of soil amended with composted sewage sludge. *Biology and Fertility of Soils* 32(5): 421-426.
- Hernández, T., Moral, R., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, M.D., García, C. (2002). Nitrogen mineralization potential in calcareous soils attended with sewage sludge. *Bioresource Technology* 83: 213-219.
- Hogg, D., Favoino, E., Nielsen, N., Thompson, J., Wood, K., Penschke, A., Economides, D., Papageorgiou, S. (2002). Economic Analysis of Options for Managing Biodegradable Municipal Waste. Final Report.
- Hogg, G., Barth, J., Favoino, E., Centemero, M., Caimi, V., Amlinger, F., Devlieger, W., Brinton, W., Antler, S. (2002). Comparison of compost standards within the EU, North America and Australia. The Waste and Resources Action Programme (WRAP), pp. 20.
- Hong-Jian, L., Jun-xia, Y., Xiao-feng, Y., Meng-ben, W. (2008). Significance of soil temperature and moisture for soil respiration in a Chinese mountain area. *Agriculture and Forest Meteorology* 148: 490 – 503.
- Hontoria, C., Rodríguez-Murillo, J.C., Saa, A. (2004). Contenido de carbono orgánico en el suelo y factores de control en la España peninsular. *Edafología* 11: 149–157.
- Hospido, A., Carballa, M., Moreira, M., Omil, F., Lema, J.M., Feijoo, G. (2010). Environmental assessment of anaerobically digested sludge reuse in agriculture: Potential impacts of emerging micropollutants. *Water research* 44: 3225–3233.
- Howard, D.M., Howard P.J.A. (1993). Relationships between CO<sub>2</sub> evolution, moisture content and temperature for a range of soil types. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 1537-1546.
- IGME. (1990). Mapa geológico de España. Escala 1:50.000. Hoja de Arganda (583). IGME, Madrid.
- Illera, V., Walter, I., Souza, P., Cala, V. (2000). Short-term effects of biosolid and municipal solid waste applications on heavy metals distribution in a degraded soil under a semi-arid environment. *The Science of the Total Environment* 255: 29-44.
- IPCC. (2001). Climate Change 2001: Synthesis Report. A Contribution of Working Groups I, II, and III to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Watson, R.T. and the Core Writing Team (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, and New York, NY, USA, 398 pp.
- IPCC. (2007). Climate Change 2007: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, Pachauri, R.K and Reisinger, A. (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 104 pp.
- ISRIC. (2002). Procedures for soil analysis. International Soil Reference and Information Center (ISRIC). L.P. van Reeuwijk (Ed.).
- Jabro, J.D., Sainju, U., Stevens, W.B., Evans, R.G. (2008). Carbon dioxide flux as affected by tillage and irrigation in soil converted from perennial forages to annual crops. *Journal of Environmental Management*, 88 (4): 1478-1484.



- Jacinthe, P.A., Lal, R., Kimble, J.M. (2002). Carbon budget and seasonal carbon dioxide emission from a central Ohio Luvisol as influenced by wheat residue amendment. *Soil and Tillage Research* 67(2): 147-157.
- Jamali, M.K., Kazi, T.J., Arain, M.B., Afridi, H.I., Jalbani, N., Kandhro, G.A., Shah, A.Q., Baig, J.A. (2009). Heavy metal accumulation in different varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in soil amended with domestic sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials* 164: 1386–1391.
- Janssens, I.A., Pilegaard, K., (2003). Large seasonal changes in  $Q_{10}$  of soil respiration in a beech forest. *Global Change Biology* 9: 911-918.
- Janssens, I.A., Freibauer, A., Schlamadinger, B., Ceulemans, R., Ciais, P., Dolman, A.J., Heimann, M., Nabuurs, G.J., Smith, P., Valentini, R., Schulze, E.D. (2005). The carbon budget of terrestrial ecosystems at country-scale – a European case study. *Biogeosciences*. 2 (1): 15-26.
- Jarvis, P.G., Rey, A., Petsikos, C., Rayment, M., Pereira, J.S., Banza, J., David, J.S., Miglietta, F., Valentini, R. (2007). Drying and wetting of soils stimulates decomposition and carbon dioxide emission: the “Birch Effect”. *Tree Physiology* 27: 929-940.
- Jenkins, M.E., Adams, M.A. (2011). Respiratory quotients and  $Q_{10}$  of soil respiration in sub-alpine Australia reflect influences of vegetation type. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1266-1274.
- Jha, P., Garg, N., Lakaria, B.L., Biswas, A.K., Rao, A.S. (2012). Soil and residue carbon mineralization as affected by soil aggregate size. *Soil and Tillage Research* 121: 57–62.
- Jia, B., Zhou, G., Yuan, W. (2007). Modeling and coupling of soil respiration and soil water content in fenced *Leymus chinensis* steppe, Inner Mongolia. *Ecological Modelling* 201: 157-162.
- Jia, B.R., Zhou, G.S., Wang, F.Y., Wang, Y.H., Yuan, W.P., Zhou, L. (2006). Partitioning root and microbial contributions to soil respiration in *Leymus chinensis* populations. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 653–660.
- Jianlong, W., Jiazhao, W. (2007). Application of radiation technology to sewage sludge processing: A review. *Journal of Hazardous Materials* 143: 2–7.
- Jorge-Mardomingo, I. (2010). Dinámica de las formas nitrogenadas en el suelo tras la aplicación de dosis elevadas de lodos de depuradora. Thesis, Master en Ciencias Farmacéuticas. Universidad Complutense de Madrid, 2010 (España) 241 pp.
- Jorge-Mardomingo, I., Soler-Rovira, P., Casermeiro, M.A., de la Cruz, M.T., Polo, A. (2013). Seasonal changes in microbial activity in a semiarid soil after application of high dose of different organic amendments. *Geoderma* 206: 40-48.
- Jun, W., Liqing, S., Jianzhou, L., Zhili F. (2008). CO<sub>2</sub> efflux under different grazing managements on subalpine meadows of Shangri-La, Northwest Yunnan Province, China. *Acta Ecologica Sinica* 28: 3574–3583.
- Kalbasi, M., Karthikeyan, K.G. (2004). Phosphorus dynamics in soils receiving chemically treated dairy manure. *Journal of Environmental Quality* 33: 2296–2305.
- Kalin, R.M., Dardis, G., Lowndes, J. (1997). Secondary carbonates in the Antrim basalts: geochemical weathering at 35KyBP. In: *Geofluids II Conference Extended Abstracts*, pp. 22–25.
- Kaschl, A., Römheld, V., Chen, Y. (2002). The influence of soluble organic matter from municipal solid waste compost on trace metal leaching in calcareous soils. *Science of the Total Environment* 291(1-3): 45-57.

- Ke, X., Winter, K., Filser, J. (2005). Effects of soil mesofauna and farming management on decomposition of clover litter: a microcosm experiment. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 731–738.
- Kechavarzi, C., Dawson, Q., Bartlett, M., Leeds-Harrison, P.B. (2010). The role of soil moisture, temperature and nutrient amendment on CO<sub>2</sub> efflux from agricultural peat soil microcosms. *Geoderma* 154, 203–210
- Keeling, R.F., Piper, S.C., Heimann, M. (1996). Global and hemispheric CO<sub>2</sub> sinks deduced from changes in atmospheric O<sub>2</sub> concentration. *Nature* 381: 218–221.
- Kelessidis, A., Stasinakis, A.S. (2012). Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. *Waste Management*. In Press.
- Khomik, M., Arain, M., McCaughey, J.H. (2006). Temporal and spatial variability of soil respiration in a boreal mixed-wood forest. *Agricultural and Forest Meteorology* 140: 244–256.
- Kirchmann, H., Johnston, A.E.J., Bergstrom, L.F. (2002). Possibilities for reducing nitrate leaching from agricultural land. *Ambio* 31: 404–408.
- Kleber, M., Nikolaus, P., Kuzyakov, Y., Stahr, K. (2000). Formation of mineral N (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) during mineralization of organic matter from coal refuse material and municipal sludge. *Journal of Plant Nutrient Soil Science* 163: 73–80.
- Knightley, D., Nedwell, N.B., Cooper, M. (1995). Capacity for methane oxidation in landfill cover soils measured in laboratory scale soil microcosms. *Applied Environmental Microbiology* 61: 592–601.
- Konate, S, Le Roux, X, Verdier, B, Lepage, M. (2003). Effect of underground fungus-growing termites on carbon dioxide emission at the point- and landscape-scales in an African savanna. *Functional Ecology* 17:305–314
- Koulouri, M., Giourga, C. (2007). Land abandonment and slope gradient as key factors of soil erosion in Mediterranean terraced lands. *Catena* 69: 274–281.
- Kowalski, S., Serrano-Ortiz, P., Janssens, I.A., Sánchez-Moral, S., Cuezva, S., Domingo, F., Were, A., Alados-Arboledas, L. (2008). Can flux tower research neglect geochemical CO<sub>2</sub> exchange? *Agricultural and forest meteorology* 148: 1045–1054.
- Krogstad, T., Sogn, T.A., Asdal, A., Sæbø, A. (2005). Influence of chemically and biologically stabilized sewage sludge on plant-available phosphorous in soil. *Ecological Engineering*, 25: 51–60.
- Krull, E.S., Baldock, J.A., Skjemstad, J.O. (2001). Soil texture effects on decomposition and soil carbon storage, in *Net Ecosystem Exchange*, edited by M. U. F. Kirschbaum and R. Mueller, pp. 103–110, Coop. Cent. for Greenhouse Account., Canberra, Australia.
- Kuzyakov, Y. (2006). Sources of CO<sub>2</sub> efflux from soil and review of partitioning methods. *Soil Biology and Biochemistry* 38(3): 425–448.
- Kuzyakov, Y. (2010). Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 42 (9): 1363–1371.
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K., Stahr, K. (2000). Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry* 32 (11–12): 1485–1498.
- Lal, R. (2004a). Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. *Science* 304: 1623–1627.
- Lal, R. (2004b). Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*. 123: 1–22.
- Lal, R. (2011). Sequestering carbon in soils of agro-ecosystems. *Food Policy*, 36 (1): S33–S39.

- Lal, R., Kimble, J.M. (1999). Recommendations and Conclusions. R.F. Follett (Ed.), *Agricultural Practices and Policies for Carbon Sequestration in Soil—An International Symposium*, Ohio State University, Columbus, OH (1999).
- Lawrence, M.A.M., Davies, N.A., Edwards, P.A., Taylor, M.G., Simkiss, K. (2000). Can adsorption isotherms predict sediment bioavailability? *Chemosphere* 41(7): 1091-1100.
- Lázaro, F., Elías, F. and Nieves, M. (1978). Regímenes de humedad de los suelos de la España peninsular. Colección Monografías INIA, nº20.
- Lellei-Kovács, E., Kovács-Láng, E., Botta-Dukát, Z., Kalapos, T., Emmet, B., Beier, C. (2011). Thresholds and interactive effects of soil moisture on the temperature response of soil respiration. *European Journal of Soil Biology* 47: 247-255.
- Lester, J.N., Sterriet, R.M., Kirk, P.W.W. (1983). Significance and behaviour of metals in wastewater treatment processes, part II: sludge treatment and disposal. *Science of the total Environment* 30: 45–83.
- Li, X., Li, Z., Ding, Y., Liu, S., Zhao, Z., Luo, L., Pang, H., Li, C., Li, H., You, X., Wang, F. (2007). Seasonal variations of pH and electrical conductivity in a snow-firn pack on Glacier No. 1, eastern Tianshan, China. *Cold Regions Science and Technology* 48(1):55-63
- Li, C. (2000). Modeling trace gas emissions from agricultural ecosystems, *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 58: 259– 276.
- Li, L.J., You, M.J., Shi, H.A., Ding, X.L., Qiao, Y.F., Han, X.Z. (2013). Soil CO<sub>2</sub> emissions from a cultivated Mollisol: Effects of organic amendments, soil temperature, and moisture. *European Journal of Soil Biology* 55: 83 -90.
- Lima, J.A., Nahas, E., Gomes, A.C. (1996). Microbial populations and activities in sewage sludge and phosphate fertilizer-amended soil. *Applied Soil Ecology* 4: 75-82.
- Liu, S., Zhu, N., Li, L.Y. (2012). The one-stage autothermal thermophilic aerobic digestion for sewage sludge treatment: Stabilization process and mechanism. *Bioresource Technology* 104: 266–273.
- Lloyd, J., Taylor, J.A. (1994). On the temperature dependence of soil respiration. *Functional Ecology* 8: 315-323.
- López, M.V., Blanco-Moure, N., Limón, M.A., Gracia, R. (2012). No tillage in rainfed Aragón (NE Spain): Effect on organic carbon in the soil surface horizon. *Soil and Tillage Research* 118: 61-65.
- López-Valdez, F., Fernández-Luqueño, F., Luna-Guido, M.L., Marsch, R., Olalde-Portugal, V., Dendooven, L. (2010). Microorganisms in sewage sludge added to an extreme alkaline saline soil affect carbon and nitrogen dynamics. *Applied Soil Ecology* 45: 225–231.
- Lorenz, K., Lal, R., Preston, C.M., Nierop, K.G.J. (2007). Strengthening the soil organic carbon pool by increasing contributions from recalcitrant aliphatic bio(macro) molecules. *Geoderma* 142: 1–10.
- Lugato, E., Simonetti, G., Morari, F., Nardi, S., Berti, A., Giardini, L. (2010). Distribution of organic and humic carbon in wet-sieved aggregates of different soils under long-term fertilization experiment. *Geoderma* 157: 80–85.
- Lundin, M., Olofson, M., Pettersson, G., Zetterlund, H. (2004). Environmental and economic assessment of sewage sludge handling options. *Resource Conservation and Recycling*, 41: 255-78.

- Luo, Y., Zhou, X. (2006). *Soil Respiration and the Environment*, Elsevier/Academic Press, Amsterdam, 316 pp., 2006.
- Lynch, J., Bragg, E. (1985). Microorganisms and soil aggregate stability. *Advances in Soil Science* 2: 133- 171
- Maag, M., Vinther, F.P. (1999). Effect of temperature and water on gaseous emissions from soils treated with animal slurry. *Soil Science Society of America Journal* 63(4): 858-865.
- Madejón, E., de Mora, A.P.R., Felipe, E.N., Burgos, P., Cabrera, F. (2006). Soil amendments reduce trace element solubility in a contaminated soil and allow regrowth of natural vegetation. *Environ Pollution* 139(1): 40-52.
- Maestre, F.T., Cortina, J. (2003). Small-scale spatial variation in soil CO<sub>2</sub> efflux in a Mediterranean semiarid steppe. *Applied Soil Ecology* 23(3): 199-209.
- Marando, G., Jiménez, P., Hereter, A., Julià, M., Ginovart, M., Bonmatí, M. (2011). Effects of thermally dried and composted sewage sludges on the fertility of residual soils from limestone quarries. *Applied Soil Ecology* 49: 234–241.
- Marañón-Jiménez, S., Castro, J., Kowalski, A.S., Serrano-Ortiz, P., Reverter, B.R., Sánchez-Cañete, E.P., Zamora, R. (2011). Post-fire soil respiration in relation to burnt Wood management in a Mediterranean mountain ecosystem. *Forest Ecology and Management* 261: 1436-1447.
- MARM. (2003). Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Registro Nacional de Lodos.
- MARM. (2009). Caracterización de los lodos de depuradoras generados en España. Ed. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.
- Martensson, A.M., Witter, E. (1990). Influence of various soil amendments on nitrogen-fixing soil microorganisms in a long-term field experiment, with special reference to sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 977-982.
- Martin, J.G., Bolstad, P.V. (2009). Variation of soil respiration at three spatial scales: Components within measurements, intra-site variation and patterns on the landscape. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 530-543.
- McBride, M.B. (2003). Toxic metals in sewage sludge-amended soils: has promotion of beneficial use discounted the risks? *Advances in Environmental Research* 8: 5–19.
- Mendoza, C., Assadian, N.W., Lindemann, W. (2006). The fate of nitrogen in a moderately alkaline and calcareous soil amended with biosolids and urea. *Chemosphere* 63: 1933-1941.
- Mermut, A.R. (2003). Carbon Sequestration and its importance in semiarid and Desert Environments. Sustainable use and management of soil in arid and semiarid regions. A. Faz, R. Ortiz and A. Mermut. Murcia.
- Merrington, G., Oliver, I., Smernik, R.J., McLaughlin, M.J. (2003). The influence of sewage sludge properties on sludge-borne metal availability. *Advances in Environmental Research* 8(1): 21-36.
- Millenium Ecosystem Assessment. (2005). *Ecosystems and human well-being: Desertification synthesis*. World Resources Institute, Washington, D.C.
- Moreno, J.L., García, C., Hernández, T., Pascual, J.A. (1996). Transference of heavy metals from a calcareous soil amended with sewage-sludge compost to barley plants. *Bioresource Technology* 55(3): 251-258.
- Moreno, L., Duran, J.J., Casermeiro, M.A., Quintana, J.R., Fernández, M.A. (2008). Impact evaluation on groundwater of the infiltration of an urban wastewater geopurification system

- placed over a detrital aquifer in a semiarid region (Spain). *Environmental Geology* 54(3):465-477.
- Morita, R.Y. (1988). Bioavailability of energy and its relationship to growth and starvation survival in nature. *Canadian Journal of Microbiology* 34: 436–441.
- Morugán-Coronado, A., García-Orenes, F., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., Mataix-Beneyto, J. (2011). Short-term effects of treated wastewater irrigation on Mediterranean calcareous soil. *Soil and Tillage Research* 112(1): 18-26.
- Muñoz, M.A., Faz, A., Zornoza, R. (2013). Carbon stocks and dynamics in grazing highlands from the Andean Plateau. *Catena* 104: 136-143.
- Navarro, G. (2003). *Química Agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*, Ed. Mundi Prens, 2ª Edición. Madrid.
- Navarro-García, F., Casermeiro, M.A., Schimel, J.P. (2012). When structure means conservation: Effect of aggregate structure in controlling microbial responses to rewetting events. *Soil Biology and Biochemistry* 44: 1-8.
- Neill, C., Gignoux, J. (2006). Soil organic matter decomposition driven by microbial growth: A simple model for a complex network of interactions. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 803–811.
- Nunes, J.P.C., Seixas, J. (2003). Impacts of extreme rainfall events on hydrological soil erosion patterns; application to a Mediterranean watershed. *World Resource Review*, pp. 336–351.
- O’Connell, A.M. (1990). Microbial decomposition (respiration) of litter in eucalypt forests of south-western Australia: an empirical model based on laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 153-160.
- Obbard, J.P. (2001). Ecotoxicological assessment of heavy metals in sewage sludge amended soils. *Applied Geochemistry* 16: 1405–1411.
- Odlare, M., Pell, M., Svensson, K. (2008). Changes in soil chemical and microbiological properties during 4 years of application of various organic residues *Waste Management*. 28 (7): 1246-1253.
- Oeschger, H., Siegenthaler, U., Schotterer, U., Gugelmann, A., (1975). A box diffusion model to study the carbon dioxide exchange in nature. *Tellus* 27, 168-192.
- Ojeda, G., Alcañiz, J.M., Le Bissionnais, Y. (2008). Differences in aggregate stability due to various sewage sludge treatments on a Mediterranean calcareous soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 125: 48-56.
- Ojeda, G., Alcañiz, J.M., Ortiz O. (2003). Runoff and losses by erosion in soils amended with sewage sludge. *Land Degradation Development* 14: 563– 573.
- Ojeniyi, S.O., Dexter, A.R. (1979) Soil Factors Affecting the Macro-Structures Produced by Tillage. *Transactions of ASAE*. 22: 339-343.
- Onoyarte, C., Rey, A., Raimundo, J., Miralles, I., Escribano, P. (2012). The use of soil respiration as an ecological indicator in arid ecosystems of SE of Spain: Spatial variability and controlling factors. *Ecological Indicators* 14: 40-49.
- Ozores-Hampton, M., Stansly, P.A., Obreza, T.A. (2005). Heavy metal accumulation in a sandy soil and in pepper fruit following long-term application of organic amendments. *Compost Science Utilization* 13(1): 60–64.
- Papadakis, (1980). *El Clima*. Ed. Albatros. Buenos Aires.

- Paramasivam, S., Fortenberry, G.Z., Julius, A., Sajwan, K.S., Alva, A.K.J. (2008). Evaluation of emission of greenhouse gases from soils amended with sewage sludge. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic hazardous substances and environmental engineering*. 43(2): 178-85.
- Pascual, I., Antolín, M.C., García, C., Polo, A., Sánchez-Díaz, M. (2007). Effect of water deficit on microbial characteristics in soil amended with sewage sludge or inorganic fertilizer under laboratory conditions. *Bioresource Technology* 98: 29–37.
- Pascual, J.A., Hernandez, T., García, C., García, A. (1998). Changes in the organic matter mineralization rates of an arid soil after amendment with organic wastes. *Arid Soil Restoration and Rehabilitation* 12(1): 63-72.
- Pathak, A., Dastidar, M.G., Sreekrishnan, T.R. (2009). Bioleaching of heavy metals from sewage sludge: A review. *Journal of Environmental Management* 90: 2343–2353.
- Pedra, F., Polo, A., Ribeiro, A., Domingues, H. (2007). Effects of municipal solid waste compost and sewage sludge on mineralization of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 39(6): 1375-1382.
- Pepper, I.L., Brooks, J.P., Gerba, C.P. (2006). Pathogens in Biosolids. *Advances in Agronomy* 90:1–41.
- Pérez-Lomas, A.L., Delgado, G., Párraga, J., Delgado, R., Almendros, G., Aranda, V. (2010). Evolution of organic matter fractions after application of co-compost of sewage sludge with pruning waste to four Mediterranean agricultural soils. A soil microcosm experiment. *Waste Management* 30(10): 1957-1965.
- Perucci, P. (1992). Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse. *Biology and Fertility of Soils* 14: 54–60.
- Petersen, S.O., Petersen, J., Rubaek, G.H. (2003). Dynamics and plant uptake of nitrogen and phosphorus in soil amended with sewage sludge. *Applied Soil Ecology* 24: 187–195.
- Poortinga, W., Spence, A., Whitmarsh, L., Capstick, S., Pidgeon, N.F. (2012). Uncertain climate: An investigation into public scepticism about anthropogenic climate change. *Global Environmental Change*, 21: 1015–1024.
- Qazi, M.A., Akram, M., Ahmad, N., Artiola, J.F., Tuller, M. (2009). Economical and environmental implications of solid waste compost applications to agricultural fields in Punjab, Pakistan. *Waste Manage*, 29 (9): 2437–2445.
- Qi, Y., Xu, M. (2001). Separating the effects of moisture and temperature on soil CO<sub>2</sub> efflux in a coniferous forest in the Sierra Nevada mountains. *Plant and Soil* 237: 15-23.
- Quemada, M., Menacho, E. (2001). Soil respiration 1 year after sewage sludge application. Short communication. *Biology and fertility of soils*. 33: 344-346.
- Quirk, J., Murray, R. (1991). Towards a model for soil structural behavior. *Australian Journal of Soil Research* 29: 829- 867.
- Raich, J.W. Schlesinger, W.H. (1992). The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus* 44B: 81-9.
- Raich, J.W., Tufekciogul, A. (2000). Vegetation and soil respiration: Correlations and controls. *Biogeochemistry* 48 (1): 71-90
- Raikh, N.P., Takkar, P.N. (1983). Zinc and copper adsorption by a soil with and without removal of carbonates. *Journal of Indian Society of Soil Science* 31: 611–614.

- Raj, D., Antil, R.S. (2011). Evaluation of maturity and stability parameters of composts prepared from agro-industrial wastes. *Bioresource Technology* 102(3): 2868-2873.
- Rambal, S. (2001). Spatial and temporal variations in productivity of Mediterranean-type ecosystems: A hierarchical perspective, in *Terrestrial Global Productivity: Past Present, Future*, edited by H. A. Mooney, B. Saugier, and J. Roy, pp. 45–61, Academic, San Diego, California, 2001.
- Rasmussen, L. (1998). Effects of afforestation and deforestation on the deposition, cycling and leaching of elements. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 67: 153-159.
- RD (1990). Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario. BOE número 262 de 1/11/1990, 32339-32340.
- Reheis, M.C., Goodmacher, J.C., Harden, J.W., McFadden, L.D., Rockwell, T.K., Shroba, R.R., Sowers, J.M., Taylor, E.M. (1995). Quaternary soils and dust deposition in southern Nevada and California. *Geological Society American Bulletin* 107: 1003–1022.
- Reichstein, M., Subke, J.A., Angeli, A.C., Tenhunen, J.D. (2005). Does the temperature sensitivity of decomposition of soil organic matter depend upon water content, soil horizon, or incubation time? *Global Change Biology* 11: 1754-1767.
- Reichstein, M., Tenhunen, J.D., Rouspard, O., Ourcival, J.M., Rambal, S., Miglietta, F., Alessandro Peressotti, A., Pecchiari, M., Tirone, G., Valentini, R. (2002). Severe drought effects on ecosystem CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O fluxes at three Mediterranean evergreen sites: revision of current hypotheses? *Global Change Biology* 8: 999–1017.
- Renforth, P., Manning, D.A.C. (2011). Laboratory carbonation of artificial silicate gels enhanced by citrate: Implications for engineered pedogenic carbonate formation. *International Journal of Greenhouse Gas Control* 5: 1578–1586.
- Renforth, P., Manning, D.A.C., Lopez-Capel, E. (2009). Carbonate precipitation in artificial soils as a sink for atmospheric carbon dioxide. *Applied Geochemistry* 24: 1757–1764.
- Rey, A., Pegoraro, E., Tedeschi, V., De Parri, I., Jarvis, P.G., Valentini, R. (2002). Annual variation in soil respiration and its components in a coppice oak forest in Central Italy. *Global Change Biology* 8: 851–866.
- Rey, A., Pegoraro, E., Onoyarte, C., Were, A., Escribano, P., Raimundo, J. (2011). Impact of land degradation on soil respiration in a steppe (*Stipa tenacissima* L.) semiarid ecosystem in the SE of Spain. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 393-403.
- Rochette, P., Angers, D.A., Chantigny, M.H., Bertrand, N., Côté, D. (2004). Carbon dioxide and nitrous oxide emissions following fall and spring applications of pig slurry to an agricultural soil. *Soil Science Society of America Journal* 68: 1410-1420.
- Rochette, P., van Bochove, E., Prévost, D., Angers, D.A., Côté, D., Bertrand, N. (2000). Soil Carbon and Nitrogen Dynamics Following Application of Pig Slurry for the 19th Consecutive Year II. Nitrous Oxide Fluxes and Mineral Nitrogen. *Soil Science Society of America Journal* 64: 1396-1403.
- Rodríguez-Liébana, J.A., Mingorance, M.D., Peña, A. (2011). Sorption of hydrophobic pesticides on a Mediterranean soil affected by wastewater, dissolved organic matter and salts. *Journal of Environmental Management* 92: 650-654.
- Roelle, P.A., Aneja, V.P. (2002). Nitric oxide emissions from soils amended with municipal waste biosolids. *Atmospheric Environment* 36: 137–147.

- Roig, N., Sierra, J., Nadal, M., Martí, E., Navalón-Madrigal, P., Schuhmacher, M., Domingo, J.L. (2012). Relationship between pollutant content and ecotoxicity of sewage sludges from Spanish wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*. In Press.
- Ros, M., Hernandez, M. T. and García, C. (2003). Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry* 35 (3): 463-469.
- Rovira, P., Ramón Vallejo, V. (2007). Labile, recalcitrant, and inert organic matter in Mediterranean forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 202-215.
- Ruellan A. (1999). The main rules of soil distribution in the Mediterranean World. In: Bech, J. \_Ed., Extended Abstracts Volume. 6th International Meeting of Soils with Mediterranean Type of Climate. Opening Lecture. pp 31-32
- Saby, N.P.H., Bellamy, P.H., Morvan, X., Arrouays, D., Jones, R.J.A., Verheijen, F.G.A., Kibblewhite M.G., Verdoodt, A., Üveges, J.B., Freudenschuß, A., Simota C. (2008). Will European soil-monitoring networks be able to detect changes in topsoil organic carbon content? *Global Change Biology* 14: 2432-2442.
- Sánchez-Brunete, C., Miguel, E. and Tadeo, J. L. (2007). Analysis of 27 polycyclic aromatic hydrocarbons by matrix solid-phase dispersion and isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry in sewage sludge from the Spanish area of Madrid. *Journal of Chromatography A* 1148 (2): 219-227.
- Sánchez-Monedero, M.A., Mondini, C., de Nobili, M., Leita, L., Roig, A. (2004). Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter. *Waste Management* 24: 325-332.
- Sanderman, J., Amundson, R.G., Baldocchi, D.D. (2003). Application of eddy covariance measurements to the temperature dependence of soil organic matter mean residence time. *Global Biogeochemistry Cycles* 17 (2): 1061
- Savage, K., Davidson, E. (2003). A comparison of manual and automated systems for soil CO<sub>2</sub> flux measurements: trade-offs between spatial and temporal resolution. *Journal of Experimental Botany* 54: 891-899.
- Saviozzi, A., Bufalino, P., Levi-Minzi, R., Riffaldi, R. (2002). Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments. *Biology and Fertility of Soils* 35: 96-101.
- Schimel, J.P., Schaeffer, S.M. (2012). Microbial control over carbon cycling in soil. *Frontiers in Microbiology* 3: 1-11.
- Schlesinger, W.H. (1985). The formation of caliche in soils of the Mojave Desert. California. *Geochimica and Cosmochimica Acta* 49: 57-66.
- Schlöter, M., Dilly, O., Munch, J.C. (2003). Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture and Ecosystem Environment* 98: 255-262.
- Schoeneberger, P.J., Wysocki, D.A., Benham, E.C., Broderson, W.D. (editors) (2002). Field book for describing and sampling soils, Version 2.0. Natural Resources Conservation Service, National Soil Survey Center, Lincoln, NE.
- Scholes, R.J., Monteiro, P.M.S., Sabine, C.L., Canadell, J.G. (2009). Systematic long-term observations of the global carbon cycle. *Trends in Ecology and Evolution* 24: 427-430.
- Schowaneck, D., Carr, R., David, H., Douben, P., Hall, J., Kirchmann, H., Patria, L., Sequi, P., Smith, S., Webb, S. (2004). A risk-based methodology for deriving quality standards for organic contaminants in sewage sludge for use in agriculture—Conceptual Framework. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 40: 227-251.



- Schulze, E.D., Ciais, P.D., Luyssaert, S., Schrumpf, M., Janssens, I.A., Thiruchittampalam, B., Theloke, J., Saurat, M., Bringezu, S., Lelieveld, J., Lohila, A., Rebmann, C., Jung, M., Bastviken, D., Abril, G., Grassi, G., Liep, A., Freibauer, A., Kutsch, W., Don, A., Nieschulze, J., Borner, A., Gash, J.H., Dolman, A.J. (2010). The European carbon balance. Part 4: integration of carbon and other trace-gas fluxes. *Global Change Biology* 16: 1451–1469.
- SEC. (2010). Commission staff working document: Accompanying the Communication from the Commission On future steps in bio-waste management in the European Union. Brussels, 18.5.2010. SEC(2010) 577 final
- Serrano-Ortiz, P., Kowalski, A.S., Domingo, F., Rey, A., Pegoraro, E., Villagarcia, L. Alados-Arboledas, L. (2007). Variations in daytime net carbon and water exchange in a montane shrubland ecosystem in southeast Spain. *Photosynthetica* 45: 30–35.
- Serrano-Ortiz, P., Roland, M., Sanchez-Moral, S., Janssens, I.A., Domingo, F., Godd  ris, Y., Kowalski, A.S. (2010). Hidden, abiotic CO<sub>2</sub> flows and gaseous reservoirs in the terrestrial carbon cycle: Review and perspectives. *Agriculture and Forest Meteorology* 150: 321–329.
- Sheppard, S.K., Gray, N., Head, I.M., Lloyd, D. (2005). The impact of sludge amendment on gas dynamics in an upland soil: monitored by membrane inlet mass spectrometry. *Bioresource Technology* 96: 1103–1115.
- Shi, P.L., Zhang, X.Z., Zhong, Z.M., Ouyang, H. (2006). Diurnal and seasonal variability of soil CO<sub>2</sub> efflux in a cropland ecosystem on the Tibetan Plateau. *Agriculture and Forest Meteorology* 137: 220–233.
- Sidhu, J.P.S, Toze, S.G. (2009). Human pathogens and their indicators in biosolids: A literature review. *Environment International* 35: 187–201.
- Sigman, D.M., Boyle, E.A. (2000). Glacial/interglacial variations in atmospheric carbon dioxide. *Nature* 407: 859-869.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Denef, K. (2004). A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research* 79: 7-31.
- Six, J., Elliott, E.T., Paustian, K. (2000). Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 2099–2103.
- Skopp, J., Jawson, M.D., Doran, J.W., (1990). Steady-State Aerobic Microbial Activity as a Function of Soil Water Content. *Soil Science Society of America Journal* 54 (6): 1619-1625.
- Smith, M.T.E., Smernik, R.J., Merrington, G., Tibbett, M. (2008). Changes in sewage sludge carbon forms along a treatment stream. *Chemosphere* 72(6): 981-985.
- Smith, S.R. (1996). *Agricultural Recycling of Sewage Sludge and the Environment.*, Wallingford, CAB International, 1996. ISBN 0 85198 980 2, 382 pp.
- Smith, S.R. (2008). The implications for human health and the environment of recycling biosolids on agricultural land. Imperial College London Centre for Environmental Control and Waste Management.
- Smith, S.R. (2009). A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environmental International* 35: 142-156.
- Smith, S.R., Durham, E. (2002). Nitrogen release and fertiliser value of thermally-dried biosolids. *Water and Environmental Journal* 16: 121–126.

- Smith, S.R., Woods, V., Evans, T.D. (1998). Nitrate dynamics in biosolids-treated soils. III. Significance of the organic nitrogen, a twin-pool exponential model for nitrogen management and comparison with the nitrate production from animal wastes. *Bioresource Technology* 66:161-174.
- Smith, V.R. (2005). Moisture, carbon and inorganic nutrient controls of soil respiration at a sub-Antarctic island. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 81–91.
- Sommers, L.E., Nelson, D.W., Silviera, D.J. (1979). Transformations of carbon, nitrogen and metals in soils treated with waste materials. *Journal of Environmental Quality* 8: 287-294.
- Song, U., Lee, E.J. (2010). Environmental and economical assessment of sewage sludge compost application on soil and plants in a landfill. *Resources, Conservation and Recycling* 54: 1109–1116.
- Sowerby, A., Emmett, B.A., Tietema, A., Beier, C. (2008). Contrasting effects of repeated summer drought on soil carbon efflux in hydric and mesic heathland soils. *Global Change Biology* 14: 2388-2404.
- Stallard, R.F. (1998). Terrestrial sedimentation and the carbon cycle: Coupling weathering and erosion to carbon burial. *Global Biogeochemical Cycles* 12: 231-258.
- Stern, N. (2006). Stern Review on the Economics of Climate Change. UK Government Economic Service, London (2006) [www.sternreview.org.uk](http://www.sternreview.org.uk)
- Stevens, J. L., Northcott, G. L., Stern, G. A., Tomy, G. T. and Jones, K. C. (2003). PAHs, PCBs, PCNs, organochlorine pesticides, synthetic musks, and polychlorinated n-alkanes in U.K. sewage sludge: Survey results and implications. *Environmental Science and Technology* 37: 462-467.
- Stevenson, F.J. (1994). *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. Second ed., John Wiley Sons, New York, 496 p.
- Strachan, G.W., Nelson, D.W., Sommers, L.E. (1983). Sewage sludge components extractable with non-aqueous solvents. *Journal of Environmental Quality* 12(1): 69–74.
- Subke, JA., Bahn, M. (2010). On the ‘temperature sensitivity’ of soil respiration: Can we use the immeasurable to predict the unknown? *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1653-1656.
- Supan, (1884). *Grundzüge des physischen Erdkunde*, Leipzig.
- Tamir, G., Shenker, M., Heller, H., Bloom, P.R., Bar-Tal, P.F.A. (2011). Can Soil Carbonate Dissolution Lead to Overestimation of Soil Respiration? *Soil Science Society of America Journal* 75:1414-1422.
- Tarrasón, D., Ojeda, G., Ortiz, O., Alcañíz, J.M. (2008). Differences on nitrogen availability in a soil amended with fresh, composted and thermally-dried sewage sludge. *Bioresource Technology* 99:252–259
- Theng, B.K.G. (1976). Interactions between montmorillonite and fulvic acid. *Geoderma* 15: 243–251.
- Thierron, V., Laudelout, H. (1996). Contribution of root respiration to total CO<sub>2</sub> efflux from the soil of a deciduous forest. *Canadian Journal of Forest Research* 26: 1142–1148.
- Thomas, A.D., Hoon, S.R., Dougill, A.J. (2011). Soil respiration at five sites along the Kalahari Transect: Effects of temperature, precipitation pulses and biological crust cover. *Geoderma* 167-168: 284-294.
- Tian, G., Granato, T.C., Dinelli, F.D., Cox, A.E. (2008). Effectiveness of biosolids in enhancing soil microbial populations and N mineralization in golf course putting greens. *Applied Soil Ecology* 40(2): 381-386.

- Tinoco, P., Almendros, G., González-Vila, F.J., Lankes, U., Lüdemann, H.D. (2004). Analysis of carbon and nitrogen forms in soil fractions after the addition of  $^{15}\text{N}$ -compost by  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  nuclear magnetic resonance. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 52(17): 5412-5417.
- Toribio, M., Romanyà, J. (2006). Leaching of heavy metals (Cu, Ni and Zn) and organic matter after sewage sludge application to Mediterranean forest soils. *Science of the Total Environment* 363: 11–21.
- Torri, S., Alvarez, R., Lavado, R.L. (2003). Mineralization of Carbon from Sewage Sludge in Three Soils of the Argentine Pampas. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 34: 2035-2043.
- Torsvik, V., Øvreas, L. (2007). Microbial phylogeny and diversity in soil. In: van Elsas, J.D., Jansson, J.K., Trevors, J.T. (Eds.), *Modern Soil Microbiology*, second ed. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 23–54.
- Townsend, A.R., Howarth, R.W. (2010). El problema global del nitrógeno. *Investigación y Ciencia* 403: 64-71.
- Trumbore, S.E., Vogel, J.S., Southon, J.R. (1989). AMS  $^{14}\text{C}$  measurements of fractionated soil organic matter: an approach to deciphering the soil carbon cycle. *Radiocarbon* 31: 644–654.
- Trumbore S. (2006). Carbon respired by terrestrial ecosystems—recent progress and challenges. *Global Change Biology* 12:141–153
- U.S. Department of Energy (DOE). Office of Science Office of Biological and Environmental Research. 2008. Carbon Cycling and Biosequestration Workshop Report. March 4–6 and 17–18, 2008.
- Uggetti, E., Ferrera, I., Nielsenb, S., Ariasc, C., Brixc, H., García, J. (2012). Characteristics of biosolids from sludge treatment wetlands for agricultural reuse. *Ecological Engineering* 40: 210-216.
- Unger, S., Máguas, C., Pereira J.S., David, T.S., Werner, C. (2010). The influence of precipitation pulses on soil respiration – Assessing the “Birch effect” by stable carbon isotopes. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1800-1810.
- Valentini, R. (2003). Fluxes of carbon, water and energy of European forests. *Ecological Studies* 163. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 270 p.
- Valladares, F. (2004). *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Pp: 163-190. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid. ISBN: 84-8014-552-8.
- Van Frankenhuyzen, J.K., Trevors, J.T., Lee, H., Flemming, C.A., Habash, M.B. (2011). Molecular pathogen detection in biosolids with a focus on quantitative PCR using propidium monoazide for viable cell enumeration. *Journal of Microbiological Methods* 87: 263–272.
- Van Veen, J.A., Ladd, J.N., Amato, M. (1985). Turnover of carbon and nitrogen through the microbial biomass in a sandy loam and a clay soil incubated with  $^{14}\text{C}$ (U) glucose and  $^{15}\text{N}$ ( $\text{NH}_4$ ) $_2\text{SO}_4$  under different moisture regimes. *Soil Biology and Biochemistry* 17 (6): 747-756.
- Waldrop, M.P., Firestone, M.K. (2004). Microbial community utilization of recalcitrant and simple carbon compounds: impact of oak–woodland plant communities. *Oecologia* 138: 275–284.
- Wang, W., Chen, W., Wang, S. (2010). Forest soil respiration and its heterotrophic and autotrophic components: Global patterns and responses to temperature and precipitation. *Soil Biology and Biochemistry* 42(8): 1236-1244.

- Warman, P.R., Termeer, W.C. (2005). Evaluation of sewage sludge, septic waste and sludge compost applications to corn and forage: yields and N, P and K content of crops and soils. *Bioresource Technology* 96: 955–961.
- Watanabe, Y., Stewart, B.W., Ohmoto, H. (2004). Organic- and carbonate-rich soil formation 2.6 billion years ago at Schagen, East Transvaal district, South Africa. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68: 2129–2151.
- Webster, K.L., Creed, I.F., Showronski, M.D., Kaheil, Y.H. (2009). Comparison of the performance of statistical model that predict soilrespiration from forests. *Soil Science Society of America Journal* 73: 1157–1167.
- Wei, Y., Van Houten, R.T., Borger, A.R., Eikelboom, D.H., Fan, Y. (2003). Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. *Water Research* 37: 4453–4467.
- Wild, S.R., Waterhouse K.S., McGrath S.P., Jones K.C. (1990). Organic contaminants in an agricultural soil with a known history of sewage sludge amendments: polynuclear aromatic hydrocarbons. *Environmental Science Technology* 24: 1706–1711.
- Wong JWC, Lai KM, Fang M, Ma KK. (1998). Effect of sewage sludge amendment on soil microbial activity and nutrient mineralization. *Environment International* 24(8): 935–943.
- Wuebbles, D.J., Jain, A.K. (2001). Concerns about climate change and the role of fossil fuel use. *Fuel Processing Technology* 71: 99–119.
- Xu, M., Qi, Y. (2001). Spatial and seasonal variations of  $Q_{10}$  determined by soil respiration measurements at Sierra Nevada forest. *Global Biogeochemical Cycles* 15: 687–696.
- Xu, X., Zhou, J., Ruan, H., Luo, Y., Wang, J. (2010). Temperature sensitivity increases with soil organic carbon recalcitrance along elevational gradient in the Wuyi Mountains, China. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1811–1815.
- Yang, Z., Singh, B.R., Hansen, S. (2007). Aggregate associated carbon, nitrogen and sulphur and their ratios in long-term fertilized soils. *Soil and Tillage Research* 95: 161–171.
- Yu, Y.L., Wu, X.M., Li, S.N., Fang, H., Zhan, H.Y., Yu, J.Q. (2006). An exploration of the relationship between adsorption and bioavailability of pesticides in soil to earthworm. *Environmental Pollution* 141(3): 428–433.
- Zech, W., Senesi, N., Guggenberger, G., Kaiser, K., Lehmann, J., Miano, T.M., Miltner, A., Schroth, G. (1997). Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma* 79: 117–161.
- Zhang, L.H., Chen, Y.N., Zhao, R.F., Li, W.H. (2010). Significance of temperature and soil water content on soil respiration in three desert ecosystems in Northwest China. *Journal of Arid Environments* 74: 1200–1211.
- Zhao, M., Zhou, J., Kalbitz, K. (2008). Carbon mineralization and properties of water extractable organic carbon in soils of the south Loess Plateau in China. *European Journal of Soil Biology* 44: 158–165.
- Zhou, X.H., Sherry, R.A., An, Y., Wallace, L.L., Luo, Y.Q. (2006). Main and interactive effects of warming, clipping, and doubled precipitation on soil  $CO_2$  efflux in a grassland ecosystem. *Global Biogeochemical Cycles* 20: 1–12.
- Zinati, G.M., Li, Y.C., Bryan, H.H. (2001). Utilization of compost increases organic carbon and its humin, humic and fulvic acid fractions in calcareous Soil. *Compost Science and Utilization* 9: 156–162.

- Zornoza, R., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Arcenegui, V., García-Orenes, F., Mataix-Beneyto, J. (2007). Assessing the effects of air-drying and rewetting pre-treatment on soil microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soluble carbon under Mediterranean. *European Journal of Soil Biology* 43:120-129.

